



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

FACOLTÀ DI MEDICINA E ODONTOIATRIA
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO XXXI CICLO

TECNOLOGIE BIOMEDICHE IN MEDICINA CLINICA

TESI DI DOTTORATO

***Sindrome da delezione 22q11.2: studio della funzionalità
cardiopulmonare in pazienti non cardiopatici***

Relatore: Prof. Bruno Marino

Candidata Caterina Lambiase
Matricola 688835

Anno Accademico 2017/2018

Indice

| | |
|--|----|
| ABSTRACT..... | 5 |
| 1. Introduzione..... | 8 |
| 1.1 Epidemiologia e storia della sindrome..... | 8 |
| 1.2 Genetica e patogenesi..... | 11 |
| 1.3 Il quadro clinico della sindrome..... | 17 |
| L'aspetto fenotipico | 18 |
| Anomalie otorinolaringoiatriche..... | 19 |
| Il deficit immunitario | 20 |
| Disturbi endocrinologici | 22 |
| I disturbi dell'alimentazione e le anomalie gastrointestinali | 23 |
| La valutazione auxologica | 24 |
| Lo sviluppo psicomotorio e le problematiche neuropsichiatriche | 24 |
| Le anomalie ortopediche e le problematiche reumatologiche | 27 |
| Anomalie genitourinarie | 28 |
| Altre manifestazioni | 28 |
| 1.4 L'aspetto cardiologico..... | 29 |
| 1.5 Diagnosi e Management | 36 |
| 2. Il Test da sforzo Cardiopolmonare | 40 |
| 2.1 Parametri del test | 43 |
| 3. La Spirometria | 47 |
| 4. Lo studio clinico I | 51 |
| 4.1 Background e scopo dello studio | 51 |
| 4.2 Materiali e metodi | 53 |
| 4.3 Analisi statistica dei dati | 57 |
| 4.4 Risultati | 57 |
| 4.5 Discussione | 64 |

| | |
|---|----|
| 4.6 Conclusioni | 67 |
| 5. Lo studio clinico II..... | 69 |
| 5.1 Background e scopo dello studio | 69 |
| 5.2 Materiali e metodi | 71 |
| 5.3 Analisi statistica dei dati | 84 |
| 5.4 Risultati | 85 |
| 5.5 Discussione | 89 |
| 5.6 Conclusioni | 91 |
| Bibliografia..... | 93 |

ABSTRACT

Introduzione:

La delezione 22q11.2 è una sindrome genetica causata da una microdelezione del braccio lungo del cromosoma 22, caratterizzata da un'alta variabilità fenotipica e, in circa l'80% dei casi, si accompagna ad una cardiopatia congenita. Il paziente con la del22q11 è un paziente difficile da gestire, soprattutto per le numerose condizioni mediche associate, anche di tipo neuropsichiatrico. Si tratta, spesso di pazienti in sovrappeso, obesi, con ritardo mentale, psicosi, dismorfie facciali e problemi nel linguaggio e nella comunicazione. Tutti questi fattori favoriscono l'isolamento sociale e uno stile di vita sedentario.

STUDIO I

Obiettivo:

L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la funzionalità cardiorespiratoria e la tolleranza all'esercizio fisico in soggetti adolescenti e in età adulta affetti dalla sindrome da del22q11 senza cardiopatia congenita, confrontandoli con un gruppo di controllo.

Metodi:

Lo studio ha coinvolto 20 soggetti affetti dalla del22q11 senza cardiopatia congenita, 16 maschi e 4 femmine, con un'età media di $27,44 \pm 9,43$ (range 14,7- 46,5 anni). I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un gruppo di controlli equivalente, costituito da 22 soggetti. Tutti i soggetti arruolati hanno eseguito spirometria, test cardiopolmonare e valutazione del QI.

Risultati:

Spirometria: si è evidenziata una riduzione significativa e omogenea del FEV1 e del FVC ($p < 0,0001$) con un rapporto (Indice di Tiffaneau) nel range di normalità; questi

dati sono indicativi di una sindrome restrittiva nei soggetti con del22q11. Valori più bassi del FEV1 si sono registrati nei 12 pazienti sindromici con scoliosi.

Test cardiopolmonare: i valori medi del consumo massimale di ossigeno (VO₂max) e gli equivalenti metabolici (METS) sono risultati più bassi nei soggetti sindromici (del22q11) rispetto ai controlli (C). Per quanto riguarda la durata dell'esercizio (ET), si è riscontrato un valore medio confrontabile nei due gruppi, nonostante vi sia una relazione lineare tra l'ET e il QI dei pazienti del22q11. Nessun paziente, durante il test, ha mostrato segni di sofferenza cardiaca, aritmie o una sintomatologia sforzo correlata.

Conclusioni:

L'alterata funzionalità respiratoria può essere correlata a problematiche relative alla sindrome, come la scoliosi e le anomalie delle vie aeree. I bassi valori di VO₂Max sono il risultato di una scarsa attività fisica ed uno stile di vita sedentario, evidenziato nel 90% dei pazienti del22q11 arruolati. Interventi multispecialistici e un regolare esercizio fisico, possono contribuire a migliorare la fitness cardiorespiratoria, il benessere fisico e mentale e, quindi, la qualità della vita in questi pazienti.

STUDIO II

Obiettivo:

L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la funzionalità cardiaca in soggetti adolescenti e adulti affetti dalla Sindrome da del22q11 senza cardiopatia congenita, confrontandoli con un gruppo di controllo.

Metodi:

Lo studio ha coinvolto 21 soggetti con diagnosi genetica di del22q11 senza cardiopatia congenita, 16 maschi e 5 femmine, con un'età media di 22,61 anni. I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un gruppo di controlli equivalente, costituito da 14 soggetti sani. Tutti i soggetti arruolati hanno eseguito ecocardiografia color-doppler transtoracica.

Risultati:

Dallo studio ecografico è risultato che tutti i pazienti con del22q11.2 hanno valori che rientrano nella norma. Nel complesso però, del gruppo di studio con del22, sono state registrate variazioni statisticamente significative per i valori M-mode del setto interventricolare e degli indici di massa ventricolare sinistra, nonché, al Tissue Doppler Imaging, vi sono variazioni di alcuni valori del flusso transmitralico, che possono far pensare ad una disfunzione diastolica in fase subclinica.

Si è ipotizzato che queste alterazioni possano essere dovute a quattro fattori:

- disfunzione mitocondriale a livello cardiaco
- alterazione dei vasi linfatici cardiaci
- anomalie delle coronarie
- alterazione del sistema nervoso autonomo e conseguente tono vascolare anomalo.

Conclusioni:

I pazienti con del22q11 hanno una funzione ventricolare sostanzialmente normale.

Nonostante ciò, sono state riscontrate, per alcuni valori, differenze significative tra i due gruppi che dovranno essere indagate per capirne le cause e per impostare dei programmi di follow-up.

1. Introduzione

1.1 Epidemiologia e storia della sindrome

La Sindrome da delezione della regione cromosomica 22q11.2 (del22q11) rappresenta la più comune sindrome da microdelezione che si manifesta nella specie umana. Comprende un gruppo molto eterogeneo di quadri sindromici, che condividono la stessa patogenesi genetica: una microdelezione del braccio lungo (q) del cromosoma 22. Si presenta con una frequenza approssimativa di 1 ogni 4000-6000 nati vivi (Botto LD et al, 2003).

Recentemente, si sta assistendo ad un progressivo aumento dell'incidenza dovuto all'identificazione della delezione anche in genitori di bambini affetti dalla sindrome (McDonald-McGinn DM et al, 2001). È presente in circa 1 su 68 bambini con cardiopatia congenita ed è la più comune sindrome associata ad anomalie del palato ed ad insufficienza velofaringea, mentre rappresenta la seconda causa più comune di ritardo dello sviluppo psicomotorio (circa 2.4 % degli individui affetti) (Perez E et al, 2002).

Tutti gli autori sottolineano come l'elevata variabilità di questi rilevamenti sia probabilmente da attribuire all'eterogeneità del fenotipo clinico, che può variare da segni isolati e non rilevanti per il benessere del paziente a quadri complessi e gravi, da forme ad esordio neonatale a quelle in cui i primi segni compaiono tardivamente: ne deriva la difficoltà di individuare i pazienti affetti dalle forme più sfumate o ad esordio tardivo. La valutazione dell'incidenza, quindi, sarà influenzata da variabili diverse come l'abilità e l'esperienza dei medici-esaminatori, dai criteri di indicazione alla valutazione genetica, dai metodi di diagnosi, dalla popolazione esaminata e dalla durata nel tempo dello studio. Come conseguenza diretta di queste limitazioni, gli studi probabilmente sottostimano la reale incidenza e prevalenza della malattia: i valori riportati dovranno essere considerati dei valori minimi destinati ad aumentare

in maniera direttamente proporzionale all'aumentare delle conoscenze mediche riguardo a questa condizione.

Le manifestazioni cliniche più frequenti della sindrome sono rappresentate da: cardiopatia congenita (77%), difetto immunitario (77%), ritardo del linguaggio e dell'apprendimento (65-85%), anomalie del palato (42%), ipocalcemia (49%), dismorfie facciali e disturbi neuropsichiatrici (McDonald-McGinn DM et al, 2011). L'associazione variabile di questi caratteri ha portato, prima della identificazione della sindrome genetica del22q11, alla descrizione di diverse sindromi cliniche.

La **sindrome di DiGeorge (DGS)** venne descritta per la prima volta nel 1965 da Angelo DiGeorge, medico statunitense di origini italiane, che osservò una facies caratteristica, con dismorfie facciali, in bambini che condividevano un quadro clinico comune: infezioni ricorrenti dovute all'aplasia del timo, l'ipoparatiroidismo con conseguente ipocalcemia che si manifestava con tipiche convulsioni neonatali e malformazioni cardiache, soprattutto riguardanti il tratto d'efflusso.

Successivamente, nel 1976, un gruppo di medici giapponesi guidati dal Dr. Takao descrisse una sindrome con anomalie del volto e tronco-conali, che fu definita come **Cono-Truncal Anomaly Face Syndrome (CTAFS)**.

Nel 1978 Robert Shprintzen, chirurgo plastico americano, si accorse che molti dei suoi pazienti che necessitavano un intervento di correzione di anomalie del palato, presentavano anche una cardiopatia congenita e una facies tipica; descrisse così la **Velo-Cardio-Facial Syndrome (VCFS)**.

Nonostante i pazienti descritti da Takao e Shprintzen non presentassero anomalie a carico del timo e delle paratiroidi come quelli di DiGeorge, vi erano delle caratteristiche cliniche costanti in tutti i pazienti, tanto da far nascere il sospetto che si trattasse di sindromi con una base patogenetica comune.

Così, dopo che nel 1981 si individuò una prima associazione tra la DGS e un riarrangiamento cromosomico non bilanciato in sede 22q11 in 4 individui di una

stessa famiglia (de la Chapelle A. et al, 1981), si pensò di ricercare la stessa alterazione genica nei pazienti con CTAFS e VCFS in modo da confermare l'intuizione clinica. La microdelezione del cromosoma 22 fu identificata mediante tecniche di ibridazione in situ (FISH-Fluorescent In Situ Hybridization) nell'88% dei pazienti portatori di DGS, nel 76% dei pazienti con VCFS e in pazienti con CTAFS (Burn et al, 1993).

Si pensò quindi di raggruppare le diverse sindromi sotto l'acronimo CATCH 22, che da una parte sottolineava la centralità del cromosoma 22 e dall'altro gli aspetti clinici più rappresentativi: **C**ardiac defects, **A**bnormal facies, **T**hymic hypoplasia, **C**left palate, and **H**ypocalcaemia (Wilson DI et al, 1993). Tuttavia, l'acronimo fu ben presto criticato e abbandonato per la scarsa accettabilità da parte di pazienti e familiari e per il limite di non rappresentare l'estrema eterogeneità fenotipica (Burn J, 1999). Alcuni autori avevano, infatti, riportato nel tempo casi in cui la delezione a carico del cromosoma 22 si associava ad ulteriori quadri sindromici quali:

- la "Opitz G/BBB syndrome" (McDonald-McGinn DM et al, 1995, 1996) con malformazioni della linea mediana, che comprendono ipertelorismo, difetti laringo-tracheo-esofagei, cardiopatia congenita e ipospadia,
- la "Cayler cardiofacial syndrome" (Giannotti et al, 1994), con ipoplasia congenita del muscolo depressore dell'angolo della bocca e la tipica facies asimmetrica durante il pianto
- l'associazione "CHARGE" (Emanuel BF, et al 1992).

Mentre si andava, così, allungando la lista delle anomalie possibilmente correlate alla suddetta delezione (circa 180, come sostiene Ryan AK et al, 1997), risaltava sempre di più il fatto che l'unico criterio oggettivo ed unificante per la diagnosi nei bambini affetti da una di queste sindromi cliniche era la dimostrazione citogenetica della delezione.

Si decise, quindi, di mantenere la nomenclatura originale soltanto per quelle forme nelle quali mancava la base genetica e raggruppare definitivamente sotto il nome “**Sindrome da delezione 22q11.2**” tutti i pazienti con una FISH positiva (Cuneo BF, 2001).

1.2 Genetica e patogenesi

La del22q11 insorge nell’80% circa dei casi “de novo” in bambini con genitori sani. Tuttavia, esistono casi familiari di trasmissione autosomica dominante: il paziente portatore ha un rischio di ricorrenza per tale patologia del 50% ad ogni concepimento; il cromosoma deleto è prevalentemente di origine materna (Digilio MC et al, 1997; Ryan AK et al, 1997). È stata documentata una grande eterogeneità intrafamiliare del fenotipo clinico: nei casi familiari i genitori affetti, tipicamente, presentano un fenotipo più sfumato, tanto che alcuni rimangono non diagnosticati fino a quando non viene posta la diagnosi su un figlio. Ne deriva l’importanza di eseguire l’analisi FISH in entrambi i genitori del paziente affetto, indipendentemente dal loro fenotipo: l’identificazione dell’eventuale stato di portatore, infatti, è indispensabile per una corretta consulenza genetica alla famiglia (Ryan AK et al, 1997).

La delezione è stata, fin dagli inizi, collegata alla presenza sul cromosoma 22 di duplicazioni segmentali (Low copy number repeats, LCRs). Nella regione più frequentemente deleta, definita appunto **Regione Critica di DiGeorge (DGCR)**, sono stati individuati 4 diversi blocchi di LCRs, chiamati LCR22 A-D, di cui A è quello più proximale (Edelmann L et al, 1999; Shaikh TH et al, 2000). La delezione insorge per crossing-over ineguale, facilitato dalla replicazione asincrona rilevata nel sito della delezione che aumenterebbe il rischio di appaiamento scorretto tra i dupliconi (Baumer A et al, 2004). Nei pazienti affetti dalla sindrome sono stati descritti tre tipi di delezione a carico della DGCR: il tipo più comune (90% dei

pazienti – TDR: Typically Deleted Region) causa la perdita di circa 3 milioni di basi (Mb) localizzate tra le LCR22s più distanti tra loro (A e D che quindi racchiudono il tratto deleto). Il 7-8% dei pazienti presenta la delezione di un segmento di dimensioni più piccole (1,5 Mb) compreso tra le prime due LCR22s (A e B). Nella restante parte dei pazienti sono state riportate diverse delezioni con un unico punto di rottura a livello di una LCR; tuttavia non sembra esserci una chiara correlazione tra l'estensione del tratto deleto e la gravità del fenotipo clinico (Carlson C et al 1997).

La delezione causa la perdita di più di 35 geni (**Fig.1**) localizzati nella regione deleta (Kobrynski LJ et al., 2007). Data la variabilità del fenotipo clinico è risultato finora difficile correlarne le caratteristiche con l'aploinsufficienza di un gene principale, risultando più realistico pensare all'effetto di più geni allineati nella regione critica oppure all'azione combinata di geni localizzati su 22q11.2 e geni regolatori in altre regioni cromosomiche.

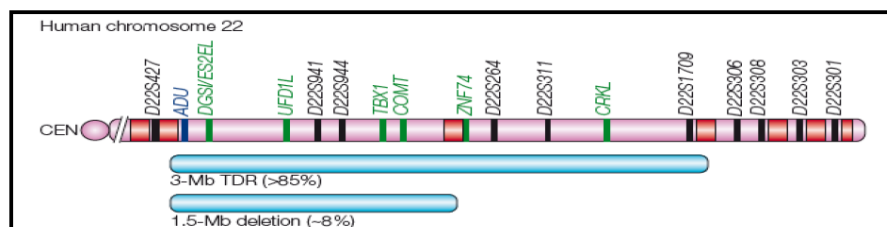


Fig.1: Regione Critica di DiGeorge sul cromosoma 22

Il difetto embriogenetico primitivo riguarda un alterato sviluppo delle strutture derivate dall'endoderma delle tasche branchiali e dal mesenchima degli archi branchiali: timo, paratiroidi, tonsille, muscolatura e strutture scheletriche della regione della faccia e del collo, l'arco aortico ed i grandi tronchi arteriosi epiaortici. È importante sottolineare che, nonostante si parli di sindrome della terza e quarta tasca faringea, è alterato lo sviluppo di tutto l'apparato faringeo con alterazioni di strutture derivate anche dal primo e secondo arco (Lindsay EA, 2001). Inoltre le stesse cellule

della cresta neurale migrano ulteriormente, attraverso l'apparato faringeo, verso il cuore primitivo, raggiungono le creste bulbari e le creste del tronco arterioso, concorrendo, così, alla formazione del setto aorto-polmonare e del setto interventricolare infundibolare. Si comprende, quindi, come lo stesso difetto embriogenetico che causa l'alterato sviluppo delle strutture branchiali sia responsabile anche delle anomalie del tratto di efflusso del cuore.

Proprio in virtù della patogenesi embriologica della sindrome del22q11, il gene della DGCR che sembra avere un ruolo particolarmente importante nel determinare il fenotipo clinico è **TBX1**: questo gene codifica per un fattore di trascrizione, appartenente alla famiglia T-box6, che regola l'espressione di vari fattori di crescita e di trascrizione. È stato dimostrato che, nei topi, TBX1 interviene precocemente nello sviluppo embrionale e viene espresso proprio in quelle strutture implicate nella patogenesi della del22q11: inizialmente nel mesoderma anteriore, quindi nel mesoderma degli archi ed endoderma delle tasche faringee, nella parete dorsale del sacco aortico, a livello della vescicola otica e nel mesenchima cerebrale (Lindsay EA et al, 2001). In una fase più tardiva, durante l'organogenesi, esso viene espresso a livello dell'epitelio polmonare, della colonna vertebrale, nelle gemme dentarie e nei muscoli della lingua. Il gene TBX1 umano è stato identificato, clonato e caratterizzato nel 1997 (Chieffio C et al 1997). Da allora vari studi su modelli animali hanno premesso di raccogliere informazioni preziose sul possibile ruolo patogenetico di TBX1 nella sindrome da del22q11: quali sono gli effetti di diversi tipi di mutazione di TBX1 sul fenotipo clinico e quali sono i tessuti che lo esprimono; oppure i livelli di dosaggio di TBX1mRNA in grado di indurre tali effetti (Lindsay EA et al, 2001).

Emergeva, chiaramente, da questi studi l'importanza di definire i livelli critici di concentrazione della proteina al fine di determinare la comparsa della sintomatologia. Sono stati prodotti, quindi, alleli ipomorfi di TBX1. Gli studi su questi modelli hanno confermato la sensibilità di alcune strutture alla progressiva riduzione dei livelli di TBX1mRNA: soprattutto il quadro cardiovascolare risultava ingravescente al diminuire delle sue concentrazioni (le strutture derivate dagli archi aortici faringei erano alterate già a livelli pari al 70% della concentrazione normale mentre il difetto nella sepimentazione del tratto di efflusso del cuore compariva solo con livelli pari al 20%); altre anomalie (es. anomalie del palato), invece, comparivano solo a livelli "soglia" di concentrazione molto bassi o, addirittura, solo se TBX1mRNA mancava del tutto (Zhang Z et Baldini A, 2008).

Esistono casi di pazienti nei quali, al fenotipo clinico della sindrome, non corrisponde la delezione di TBX1: pazienti con delezione 10p, oppure con regione deleta "atipica" ovvero non coincidente con la TDR (Kurahashi H et al, 1996). È stato postulato che, in questi casi, la mancata espressione di TBX1 sia dovuta a meccanismi che non agiscono direttamente sulla regione codificante di questo gene: la mutazione o delezione di altri geni, situati a distanza, che svolgono nei confronti di TBX1 un'azione di controllo dell'espressione (es. promoter, geni epistatici); la modificazione conformazionale della cromatina (Lindsay EA, 2001). Da segnalare infine, l'effetto prodotto dall'aploinsufficienza di altri geni che andrebbero a colpire, più o meno indipendentemente, gli stessi processi embriogenetici di TBX1. A conferma di ciò diversi geni della regione DGCR possiedono lo stesso pattern di espressione tissutale. Nonostante la mutazione di uno di essi non sia in grado di causare, se isolata, un fenotipo clinico simile a quello della sindrome da del22q11, il difetto causato dalla loro ridotta espressione andrebbe a sommarsi a quello prodotto dall'aploinsufficienza di TBX1, esacerbandolo (Jerome LA et al, 2001). Alcuni di questi geni sono stati indagati con analoghi esperimenti su modelli animali nel tentativo di definire il loro ruolo patogenetico.

Il gene **HIRA** (Histone cell-cycle-Regulation defective homologue A) codifica per una proteina-regolatrice della trascrizione che interagisce con il fattore di trascrizione PAX3, espresso a livello della cresta neurale, nel mesenchima della testa e negli archi branchiali. Si pensa, inoltre, che HIRA intervenga nel processo di sedimentazione del tratto di efflusso cardiaco: una mutazione che ne causi una ridotta espressione si associa ad una maggiore frequenza della persistenza del truncus arteriosus (Farrell MJ et al, 1999).

Il gene **GSCL** (Goosecoid-like) codifica per un fattore di trascrizione ed è espresso a livello del timo.

Il gene UFD1L (Ubiquitin Fusion Degradation 1-Like Protein) ha lo stesso pattern di espressione di TBX1: archi e tasche faringee, vescicola otica, tratto di efflusso del cuore (Pizzuti, A et al, 1997; Yamagishi H et al, 1999; Scambler PJ, 2000).

Il gene CRKL (crk-Like), omologo umano del gene murino Crkl, codifica per una proteina adattatrice della famiglia Crk e trasduce segnali intracellulari di vari recettori tra cui FGFR1, recettore per FGF8. La sua carenza, nei topi knockout, dà vita ad anomalie timiche e cardiovascolari che riproducevano il fenotipo del22q11. Il loro difetto, quindi, andrebbe a colpire una delle pathway già colpite dalla mancanza di TBX1. I due geni, inoltre, sono in epistasi e un loro difetto contemporaneo esita in un fenotipo molto più severo di quello che risulterebbe da una semplice somma dei due difetti (Lindsay EA, 2001).

Il gene COMT codifica per la catecol-O-metiltrasferasi un enzima importante nel metabolismo delle catecolamine, espresso ad alti livelli nella corteccia prefrontale. Ne è stato identificato un polimorfismo (COMT 158met), che codifica per una variante funzionale con ridotta attività enzimatica e sembra essere associato all'insorgenza di patologie psichiatriche. La sua aploinsufficienza potrebbe, quindi, contribuire ai problemi comportamentali e neuropsichiatrici (psicosi, disturbi della personalità, ADHD, autismo, ritardo mentale) che caratterizzano il fenotipo clinico di alcuni di essi. È stato postulato, anche, che questo gene possa spiegare, almeno

parzialmente, il lieve aumento dell'incidenza dei tumori (McDonald-McGinn DM et al, 2011; Kobrynski LJ et al, 2007).

Il gene GP1BB codifica per la subunità β della GPIb, glicoproteina transmembrana, componente del complesso recettoriale piastrinico per il fattore di von Willebrand (vWF), che media l'adesione delle piastrine all'endotelio vasale e l'aggregazione piastrinica. L'assenza o l'alterazione congenita di questo recettore, causa la Sindrome di Bernard-Soulier (BSS), una piastrinopatia caratterizzata da macrotrombocitopenia (McDonald-McGinn DM et al, 2011).

Recenti studi hanno chiamato in causa anche geni coinvolti nel controllo dei livelli dell'acido retinoico. Già da tempo era noto che l'esposizione fetale ad elevati livelli di

retinoidi produceva una sindrome congenita simile a quella da del22q11; si è visto, infatti, che l'acido retinoico riduce l'espressione di TBX1. Oltre all'assunzione di retinoidi, sono stati identificati altri dei fattori di rischio, che predispongono all'insorgenza della sindrome da del22; i più importanti sono il diabete gestazionale e l'assunzione di alcol in gravidanza (Lindsay EA, 2001).

1.3 Il quadro clinico della sindrome

Il quadro clinico della sindrome del22q11 è molto eterogeneo. Le manifestazioni cliniche più frequenti sono rappresentate da: cardiopatia congenita, difetto immunitario, ritardo del linguaggio e dell'apprendimento, anomalie del palato, ipocalcemia e dismorfie facciali (Ryan AK et al, 1997; McDonald-McGinn DM et al, 2011). È utile distinguere le singole caratteristiche cliniche in base alla loro frequenza nella popolazione affetta, alla loro incidenza sulla qualità della vita dei pazienti ed all'età alla quale compaiono.

Possiamo individuare secondo questi criteri delle caratteristiche maggiori, intermedie e minori della sindrome (McDonald-McGinn et al, 2011). Vengono definite come maggiori quelle caratteristiche frequenti della sindrome che si ripercuotono in maniera importante sulla qualità della vita del paziente, tanto da richiedere l'intervento medico già nella prima infanzia. Tra queste compaiono le cardiopatie, le anomalie del palato, l'immunodeficienza e il ritardo psicomotorio. Le caratteristiche intermedie sono meno frequenti, ma comunque causano importanti problematiche mediche. Esse possono esordire in qualsiasi momento della vita del paziente, anche in età adulta. Ne sono un esempio l'ipocalcemia, la dismotilità esofagea ed i disturbi dell'alimentazione, le anomalie renali, ortopediche e dentarie, le problematiche psichiatriche. Dalle caratteristiche minori, invece, non scaturiscono particolari necessità di assistenza medico-chirurgica. Sono caratteristiche tipicamente fenotipiche, come le dismorfie facciali e la polidattilia post-assiale, che contribuiscono, tuttavia, in maniera significativa al quadro complessivo del paziente e possono rappresentare in alcuni casi un indizio diagnostico molto utile. Sono stati riportati, infine, dai vari studi, svolti su coorti più o meno grandi di soggetti affetti dalla sindrome, diversi casi di pazienti che presentavano delle caratteristiche rare ma clinicamente rilevanti: alterazioni strutturali del tratto gastrointestinale, disfunzioni endocrine, patologie ematologiche ed oncologiche.

La mortalità della sindrome del22q11 è un dato che va ancora approfondito. Sono stati riportati tassi di mortalità improvvisa che variano dall' 8,5% nei primi studi (Ryan Ak et al, 1997) al 6 - 4% negli studi più recenti (McDonald-McGinn DM et al, 2011). È prevalentemente infantile ed è concentrata in particolare (86%) nel primo anno di vita. Tutti gli studi convengono nell'identificare la cardiopatia congenita come causa di morte nella quasi totalità dei casi; nella restante parte la morte era dovuta alle complicanze dell'immunodeficienza grave (soprattutto sepsi). È stato postulato, quindi, che la diminuzione del tasso di mortalità che si evince da questi dati sia da attribuire soprattutto al miglioramento delle tecniche cardiocirurgiche e delle terapie cardiologiche, che ha modificato la storia naturale della malattia, comportando un aumento dell'aspettativa di vita (Ryan AK et al, 1997; McDonald-McGinn DM et al, 2011).

L'aspetto fenotipico

La facies dei pazienti con del22q11 è tipica (**Fig.2**). Le dismorfie facciali, per quanto variabili, sono sempre presenti e, trattandosi a volte di caratteristiche sfumate, necessitano di una valutazione specialistica dismorfologica per essere opportunamente rilevate (Óskarsdóttir S et al, 2008). Tali caratteristiche, inoltre, presentano elevata variabilità, possono modificarsi con l'età e differiscono leggermente nei vari gruppi razziali (Repetto GM et al, 2009; McDonald-McGinn DM et al, 2005). Il viso è generalmente allungato e stretto e può presentare i seguenti tratti dismorfici: pienezza periorbitale, ipertelorismo oculare con le rime palpebrali strette, dirette verso l'alto e l'esterno e/o ptosi; i padiglioni auricolari piccoli, impiantati in basso e ruotati anteriormente, con elice ripiegato ed accartocciato e possibile presenza di fistole/peduncoli preauricolari; il naso prominente (con punta arrotondata nel neonato e nel lattante, "tubulare" con punta larga nel bambino più grande), la radice nasale ampia e ipoplasia delle narici; la bocca piccola, tendenzialmente aperta con labbro superiore arcuato ed estroverso (bocca "a carpa"); la retro-micrognazia, che si attenua con l'età, la pienezza malare, che viceversa diventa più marcata nell'adulto, ed il palato ogivale.



Fig.2: Facies tipica del paziente con del22q11

Tra le altre possibili, ma rare, caratteristiche dismorfologiche vanno segnalate le malformazioni delle estremità, quali mani con dita affusolate, l'ipoplasia delle unghie, la sindattilia o la polidattilia, il piede torto (Ryan AK et al 1997, McDonald-McGinn DM et al, 2011).

Anomalie otorinolaringoiatriche

Quasi la totalità dei pazienti presenta anomalie a carico del palato e/o del cavo orale. La più frequente è l'insufficienza velo-faringea (27-42%), un difetto funzionale del palato molle. Segue la schisi palatina sottomucosa (5-16%), più frequente rispetto alla palatoschisi conclamata (9-11%); a volte la schisi sottomucosa è "occulta", cioè non visibile ad un esame del cavo orale, ma che va sospettata in presenza di una sintomatologia. Ciò potrebbe spiegare perché una parte delle anomalie viene scoperta tardivamente e suggerisce che i difetti del palato siano sottostimati e che necessitano di una valutazione specialistica. Segni d'allarme includono una storia di polidramnios, rigurgito nasale di liquidi e/o cibi solidi con difficoltà nell'alimentazione, rinolalia, sinusiti croniche e ricorrenti causate da una continua contaminazione delle cavità nasali, otorrea. Ulteriori caratteristiche cranio-facciali che possono facilitare la diagnosi sono una facies asimmetrica durante il pianto, nel 14% dei pazienti, (Giannotti A et al, 1994) la microsomia emifacciale e la presenza di craniosinostosi (McDonald-McGinn DM et al, 2011).

Meno frequenti sono l'ugola bifida (5%), la labioschisi e la labiopalatoschisi completa (2%). Le anomalie del palato necessitano, spesso, di interventi chirurgici

correttivi, per questo motivo i bambini vengono valutati periodicamente dal chirurgo plastico (Losken A et al, 2006).

Di comune riscontro è anche l'ipertrofia tonsillare. L'ispezione della cavità orale, tuttavia, non sempre permette un'adeguata valutazione: è necessaria la rinofaringoscopia che permette di valutare le reali dimensioni delle tonsille e delle adenoidi. Un inquadramento corretto è fondamentale perché l'ipertrofia delle tonsille può causare difficoltà dell'alimentazione e del linguaggio ma soprattutto una tendenza alle apnee notturne e ai disturbi del sonno anche in combinazione con la retrognazia e le alterazioni strutturali che caratterizzano i pazienti (Kennedy WP et al, 2014). L'eventualità di un intervento di tonsillectomia va attentamente valutato caso per caso, mentre l'intervento di adenoidectomia è controindicato, in quanto l'asportazione delle adenoidi può peggiorare l'emissione dei suoni e quindi del linguaggio.

Le alterazioni dell'udito sono state descritte nel 60% dei pazienti con del22q11: nel 3-15% dei casi si osserva un'ipoacusia neurosensoriale, a volte in soggetti con ischemia cerebrale dovuta a distress respiratorio neonatale, idrocefalo o conseguente all'intervento cardochirurgico; mentre nel 45% dei casi si ha ipoacusia trasmissiva, quasi sempre collegata alle frequenti otiti medie e/o alle alterazioni del palato, anche se alcuni pazienti presentano anomalie ossiccolari dell'orecchio medio. La maggior parte dei pazienti presenta anomalie del condotto uditivo che contribuisce alle frequenti otiti medie, spesso con versamenti endotimpanici. L'ipoacusia, se non trattata, favorisce il ritardo del linguaggio e le difficoltà dell'apprendimento: va raccomandata, pertanto, una precoce ed adeguata all'età valutazione audiometrica, seguita da un costante follow-up (McDonald-McGinn et al, 2011).

Di comune riscontro, infine, sono le anomalie nasali (stenosi od atresia delle coane) laringee e tracheobronchiali (laringo, tracheo e broncomalacia) (Ryan AK et al, 1997).

Il deficit immunitario

La gravità e la prevalenza dell'immunodeficienza presente nella del22q11 è altamente variabile: osserviamo pazienti con sviluppo timico e profilo immunologico normale e pazienti con ipoplasia timica e alterata produzione di linfociti T; rara è l'aplasia timica completa (Gennery AR, 2012).

A seconda della gravità del difetto immunologico i pazienti possono essere suddivisi in due gruppi (Kobrynski LJ et al, 2007):

1. pazienti con difetto immunologico parziale (pSDG)
2. pazienti con difetto immunologico completo (cSDG)

La forma cSDG è rara (0,5 - 1,5 %) e presenta un quadro di immunodeficienza grave combinata, caratterizzato da linfopenia marcata, da importante riduzione fino alla quasi assenza dei linfociti T, per difettiva produzione da parte del timo, con proliferazione linfocitaria fortemente ridotta, mentre i linfociti B sono in genere presenti.

Il difetto immunologico nella pSDG è, al contrario, in genere modesto: il numero di cellule T è lievemente diminuito e la risposta proliferativa ai mitogeni/antigeni è in genere normale o quasi normale; spesso si assiste ad una normalizzazione di questi parametri nel tempo. Da qui la necessità di monitorare questi parametri con una periodicità differente a seconda dell'età in cui la diagnosi è stata posta. Si ritiene che la risposta ai mitogeni più che la conta dei linfociti T consenta di meglio definire la gravità del difetto immunologico.

La conta dei linfociti B risulta normale in molti pazienti, ma possono essere presenti alterazioni delle sottopopolazioni e nella produzione di anticorpi: ipo/ipergammaglobulinemia IgG, deficit isolati di IgA, di IgM o di alcune sottoclassi di IgG, alterazioni della risposta anticorpale ad antigeni specifici polisaccaridici e proteici (anti-pneumococco, anti-emofilo e anti-tetano). Resta tutt'ora poco chiaro se le alterazioni della risposta umorale siano dovute ad un difetto primitivo dei linfociti B o se siano secondarie a quello dei linfociti T. I difetti anticorpali, tuttavia, non

richiedono di solito un trattamento sostitutivo con immunoglobuline endovena (IVIG), a meno che non siano sintomatici (Junker AK et al, 1995).

Studi immunologici più recenti, miranti a valutare il repertorio dei linfociti T con tecniche avanzate hanno evidenziato significative alterazioni nel repertorio del TCR, principalmente limitato alla sottopopolazione CD8+. Se questo risultato sia la conseguenza della selezione di alcuni cloni dovute agli episodi infettivi o sia dovuta ad un difetto primitivo del timo, non è al momento noto. Recenti studi hanno dimostrato una diminuita percentuale di cellule CD4+CD25+ nei soggetti con SDG. Questa popolazione linfocitaria sembra giocare un ruolo importante nell'induzione della tolleranza immunologica e quindi nella prevenzione dell'autoimmunità. Si è osservato, infatti, che questi presentano un'elevata incidenza di manifestazioni autoimmuni (10% dei casi) come l'artrite reumatoide giovanile (Verloes A et al, 2007), le endocrinopatie autoimmuni (Brown JJ et al, 2004), la malattia celiaca (Digilio MC et al, 2003), le emopatie autimmuni, la vitiligine e l'epatite. È stata riportata, infine, una maggiore predisposizione dei pazienti con del22 a sviluppare reazioni allergiche e ciò rappresenta un ulteriore fattore di rischio per le infezioni delle vie respiratorie (Staple L et al, 2005).

Vista l'aumentata suscettibilità alle infezioni, viene raccomandato di intervenire tempestivamente con antibiotici per controllare gli episodi infettivi acuti e, nel caso di recidive, va presa in considerazione l'attuazione di un'antibiotico profilassi. In caso di interventi chirurgici, inoltre, in alcuni centri viene somministrata una profilassi antimicrobica perioperatoria, diversa da quella routinaria, con glicopeptidi e aminoglicosidi per tutti i pazienti e la profilassi antifungina nei pazienti con linfociti CD4+ diminuiti (Carotti A et al, 2008). Non vi sono controindicazioni alla somministrazione di vaccini nei pazienti con del22, fatta eccezione per i vaccini con virus vivi attenuati. Quest'ultimi andrebbero preceduti da una valutazione immunologica: se i linfociti CD4+ sono in numero assoluto $>500/\text{mm}^3$ e la risposta proliferativa ai mitogeni è normale la vaccinazione può essere eseguita; altrimenti,

andrebbe posticipata fino alla normalizzazione dei parametri immunologici (Perez E et al, 2002).

Disturbi endocrinologici

L'80% dei pazienti adulti presenta una storia di ipocalcemia, nella maggior parte dei casi di ipocalcemia neonatale dovuta all'ipoparatiroidismo. L'ipocalcemia può essere responsabile di convulsioni, tremori o tetania neonatale (spasmi muscolari). Tale alterazione tende a correggersi nel tempo grazie a dei meccanismi di compenso messi in atto dal tessuto paratiroideo residuo. Va sottolineato che i sintomi legati all'ipocalcemia possono manifestarsi anche tardivamente, in una forma di ipoparatiroidismo latente, in condizioni di stress, dopo interventi chirurgici o infezioni gravi. In questi casi, dolore addominale, dolori riferiti alle gambe, spasmi muscolari, tremori e convulsioni possono essere i sintomi di allerta. (Perez E et al, 2002; Brauner R et al, 2003). L'ipocalcemia può associarsi inoltre a fatica, aritmie cardiache (per il prolungamento dell'intervallo QT), irritabilità emotiva.

Supplementi quotidiani di Vitamina D e di calcio sono raccomandati per tutti gli adulti, per la prevenzione di osteoporosi e osteopenia.

Tra le altre possibili, rare, anomalie endocrino-metaboliche va segnalata soprattutto la tireopatia, che si può configurare in un'anomalia congenita della tiroide oppure in una disfunzione tiroidea secondaria ad una patologia autoimmune. È pertanto giustificato in tutti i pazienti uno screening tiroideo.

L'obesità si riscontra nel 35-40% dei pazienti con del22q11 in età adulta (Voll SL et al, 2017) ed agisce come importante fattore di rischio per lo sviluppo di diabete mellito di tipo 2, sindrome metabolica, e NAFLD (steatosi epatica non alcolica) (Fung WL et al, 2015).

I disturbi dell'alimentazione e le anomalie gastrointestinali

Le difficoltà alimentari costituiscono in genere, dopo i difetti cardiaci, il primo disturbo segnalato da parte dei genitori dei neonati affetti. I bambini, infatti, hanno tipicamente difficoltà a coordinare il riflesso di suzione/deglutizione/respiro, con conseguente lenta alimentazione ed episodi di rigurgito e soffocamento, che possono

complicarsi con infezioni ricorrenti a carico della via respiratoria (Eicher PS. et al, 2000).

Va segnalato che a complicare l'alimentazione del lattante si possono sommare anche l'ipotonia generalizzata, i difetti anatomici del palato e cardiaci, anelli vascolari che comprimono l'esofago ed in un secondo momento le problematiche della dentizione (ritardo nella formazione ed eruzione della dentizione permanente e ipoplasia dello smalto con carie frequenti, malocclusioni e malposizioni dentarie dovute ad anomalie del palato).

I disturbi gastrointestinali più comuni sono il reflusso gastroesofageo e le esofagiti (nei due terzi dei casi), la costipazione cronica e il vomito ricorrente (McDonald-McGinn et al, 2001). Malformazioni congenite comprendono: atresia esofagea, eventualmente associata a fistola tracheoesofagea, ernia diaframmatica, megacolon congenito o morbo di Hirshprung e malformazioni anali come atresia anale, ano imperforato o anteriorizzato (Ryan AK et al, 1997; Digilio MC et al, 1999).

La valutazione auxologica

I disturbi dell'alimentazione si ripercuotono sull'accrescimento staturoponderale, soprattutto nel primo anno di vita. Negli anni successivi si osserva una normalizzazione di questo parametro ed infine, in età adolescenziale, una tendenza all'obesità, che risulta più importante nei bambini con ritardo psicomotorio probabilmente a causa della maggiore sedentarietà che risulta da tale condizione. I bambini con del22q11 seguono una curva di crescita differente rispetto alla popolazione generale: si rileva un ritardo della crescita per cui nell'infanzia la bassa statura è frequente (circa il 30% dei pazienti tra il 1 e il 15 anno di vita risulta al di sotto del 3° percentile) ma, in età adolescenziale, anche questo parametro si normalizza e, nell'adulto, viene normalmente raggiunta la statura bersaglio. Sono state create curve di crescita appropriate per valutare l'accrescimento di questi pazienti.

Un fenomeno analogo è stato riportato per un altro parametro auxologico: l'età ossea appare ritardata di circa 4-6 mesi nei bambini con delezione 22q11.2, ma dopo il

decimo anno di vita essa corrisponde all'età cronologica. (Ryan AK et al, 1997; McDonald-McGinn DM et al, 1999). Raramente si ha un vero e proprio deficit dell'ormone della crescita (Weinzimer SA et al, 1998).

Lo sviluppo psicomotorio e le problematiche neuropsichiatriche

Nonostante l'ampia eterogenicità fenotipica che contraddistingue la sindrome, ci sono evidenze che ci permettono di ritenere l'esistenza di un profilo cognitivo caratteristico dei pazienti con la del22q11, indipendentemente dalle condizioni mediche associate. (Swillen A et al, 1999).

Nella maggior parte dei pazienti con del22q11 riscontriamo un Quoziente Intellettivo (Q.I.) collocabile nel range borderline, con un Q.I. tra 70-84 mentre solamente il 30-40% presenta un ritardo cognitivo moderato, Q.I. 55-69. Ritardi cognitivi più severi sono rari, anche se in questo sottogruppo la sindrome potrebbe essere sottodiagnosticata. (Evers LJ, 2014). Il ritardo cognitivo risulta più importante nei pazienti maschi, rispetto alle femmine, ed in quelli con delezione ereditata, rispetto a quelli con delezione de novo.

Tuttavia, anche in assenza di ritardo mentale, i bambini presentano difficoltà nel perseguire le normali tappe evolutive, già a partire dai primi mesi di vita. Il ritardo delle acquisizioni motorie (75%) e della produzione verbale (79-84%), cui negli anni successivi si associano spesso la difficoltà di apprendimento (82-100%), sono sintomi che portano frequentemente alla diagnosi dopo i 2 anni di età. Il ritardo delle acquisizioni motorie può, almeno in parte, essere dovuto all'ipotonìa muscolare, presente nel 76-85% dei pazienti, ed ai problemi della coordinazione e dell'equilibrio. La maggior parte dei bambini non cammina in maniera autonoma prima dei 18-24 mesi.

Il ritardo nell'acquisizione della parola e della facoltà di linguaggio, rappresenta una delle preoccupazioni maggiori per i genitori (Golding-Kushner et al, 1985): le prime parole generalmente non compaiono prima dei 2 anni di vita. L'eziologia di questo ritardo è multifattoriale, ma sicuramente l'insufficienza velo-faringea ha ruolo

dominante. In più, spesso i problemi di fonazione e/o di articolazione delle parole, la voce ipernasale rendono il linguaggio poco comprensibile.

Con l'età, il profilo cognitivo di questi ragazzi si modifica: assistiamo ad una ripresa delle capacità verbali a fronte di una sempre più manifesta disabilità nelle capacità non-verbali, con una notevole discrepanza tra VIQ (Verbal- IQ) e PIQ (Performance-IQ). Con l'ingresso nella scuola elementare, infatti, possono rendersi evidenti difficoltà d'apprendimento con una particolare compromissione delle abilità del calcolo e del ragionamento aritmetico. Il ragionamento astratto e concettuale risulta spesso danneggiato e sono presenti disfunzioni nella memoria visuo-spaziale, disturbi dell'attenzione, della comprensione e di alcune funzioni esecutive (in particolare pianificazione e problem solving). Ne consegue che il Q.I. full-scale non è un parametro adatto a valutare il livello cognitivo di questi pazienti e che il VIQ e PIQ vanno valutati separatamente (De Smedt B et al, 2003; McDonald-McGinn DM et al, 2011). Questi aspetti potrebbero essere spiegati, in parte, da un'alterazione dell'attivazione cerebrale a livello del lobo parietale sinistro, in cui si trova l'area coinvolta nel processo aritmetico, che è stata dimostrata nei pazienti con sindrome da del22 tramite risonanza magnetica funzionale (Eliez S et al, 2000).

Una maggiore incidenza di ritardo dello sviluppo e di problemi cognitivi è stata osservata nei bambini che hanno subito un intervento cardiocirurgico. È stato ipotizzato, quindi, che l'intervento cardiocirurgico possa peggiorare una condizione latente di ritardo psicomotorio tipico della sindrome (Maharasingam M et al, 2003; Atallah J et al, 2007).

Anche a livello comportamentale sono state individuate delle caratteristiche tipiche quali l'instabilità emotiva, l'ansia, l'impulsività, l'inibizione ed una grande difficoltà a costruire i rapporti sociali soprattutto con i pari.

Le patologie neuropsichiatriche rappresentano la manifestazione più importante ad esordio tardivo, soprattutto in adolescenti e giovani adulti; il ritardo cognitivo sembra essere associato ad una più elevata possibilità di sviluppare una psicopatologia, in particolare psicosi (Evers LJ 2014). La prevalenza di disturbi d'ansia, deficit

dell'attenzione e autismo è maggiore in bambini con del22q11, al contrario, per il disturbo bipolare, non si riscontra nessun incremento e la prevalenza è confrontabile con quella della popolazione generale (Schneider M et al, 2014).

Episodi di epilessia sono stati riportati in circa il 7-12% dei casi; eventi precipitanti includono febbre, ipossia, interventi chirurgici, antipsicotici e soprattutto l'ipocalcemia, che può agire da trigger ad ogni età anche in assenza di una storia di epilessia all'anamnesi, indice spesso di una disfunzione paratiroidea sottostante. In questo caso, le convulsioni si risolvono con un appropriato supplemento di calcio, fino alla normalizzazione dei valori.

Chiara è l'associazione tra schizofrenia e del22q11, considerando che approssimativamente circa il 25% dei pazienti ne risulta affetto. Allo stesso modo, la delezione si riscontra in 1 su 100-200 individui schizofrenici, rendono così la del22q11 il fattore di rischio genetico molecolare conosciuto più importante per lo sviluppo della schizofrenia. Le manifestazioni psichiatriche, l'età di esordio, i segni, sintomi e la risposta al trattamento non differiscono dagli aspetti tipici della patologia in assenza della delezione (Murphy KC et al, 1999; McDonald-McGinn et al, 2011).

L'associazione della del22q11 con le anomalie psichiatriche resta, tuttavia, ancora un argomento discusso ed è difficile chiarirne la natura. È stata dimostrata, attraverso la risonanza magnetica cerebrale la presenza di una riduzione volumetrica cerebrale globale, più evidente inizialmente a livello occipito-parietale e, successivamente all'adolescenza, a livello frontale e dell'ippocampo. Queste alterazioni neuroanatomiche potrebbero spiegare l'aumentato rischio di patologie psichiatriche, mentre le modificazioni osservate con l'età giustificherebbero l'evoluzione delle tendenze comportamentali dell'infanzia in veri e propri disturbi psichiatrici (Tan GM et al, 2009).

Le anomalie ortopediche e le problematiche reumatologiche

La frequenza delle anomalie scheletriche congenite, nei pazienti con Del22, è variabile tra il 17 ed il 19%, anche se studi specialistici riportano una percentuale più alta, circa il 36% (Ming JE et al, 1997).

I difetti scheletrici congeniti più frequenti nei bambini sono: piede torto, polidattilia, sindattilia, malformazioni delle ossa degli arti superiori e vertebrali, principalmente a carico delle prime vertebre cervicali come i difetti della linea mediana di C1, le anomalie morfologiche di C2, la fusione di C2-C3, le vertebre a farfalla o le emivertebre (Konen O et al, 2008; McDonald-McGinn DM et al, 2001).

Con il passare degli anni questi bambini possono sviluppare scoliosi o cifo-scoliosi, dovute alla debolezza muscolare, che predispone ad alterazioni posturali. Nei soggetti con alterazioni morfo-strutturali l'equilibrio statico è alterato e può essere presente uno squilibrio con caduta anteriore della parte alta del tronco e della testa, per cui il centro di gravità è completamente spostato anteriormente (Digilio MC et al 2003b). Questo squilibrio è sempre accompagnato da tensioni muscolari anomale, importanti a livello dei muscoli antigravitari estensori, che sono obbligati a compensare lo spostamento anteriore del centro di gravità.

È importante, quindi, intervenire precocemente con adeguate tecniche di ginnastica posturale o con altri presidi terapeutici.

Dal punto di vista reumatologico le articolazioni dei pazienti con sindrome da Del22 possono essere interessate da una artrite autoimmune, prevalentemente poliarticolare, indistinguibile clinicamente dall'artrite reumatoide giovanile (Rasmussen SA et al, 1996).

Anomalie genitourinarie

In circa 1/3 dei pazienti con del22q11 sono state descritte malformazioni renali e/o anomalie genitourinarie. Le alterazioni più frequentemente descritte sono: agenesia renale unilaterale, rene displastico, rene policistico, idronefrosi, uropatia ostruttiva, reflusso vescicoureterale, disfunzioni dello svuotamento vescicale, ipospadia, criptorchidismo. Sono state descritte, più raramente, la nefrocalcinosi, la duplicazione delle alte vie urinarie, ernie inguinali e l'agenesia uterina. Molte di queste anomalie richiedono un intervento medico e/o chirurgico per prevenire le complicanze, quali l'ipertensione renale.

Questi dati suggeriscono che la valutazione clinica e strumentale urologica dovrebbero rientrare nell'iter diagnostico di questi pazienti (Ryan AK et al, 1997; McDonald-McGinn et al, 2001).

Altre manifestazioni

Tra le manifestazioni più rare, ma caratteristiche della del22q11, ci sono le alterazioni oculari (microftalmia, opacità corneali come l'embriotoxon posteriore, coloboma dell'iride, strabismo, ptosi e tortuosità dei vasi retinici), le anomalie ematologiche principalmente a patogenesi autoimmune (pancitopenia, anemia emolitica autoimmune, porpora trombocitopenica autoimmune o morbo di Werlhof, piastrinopatie come la sindrome di Bernard-Soulier e un'aumentata predisposizione a sviluppare tumori (epatoblastoma, linfoma, tumore di Wilms, melanoma, neuroblastoma) (Mansour AM et al, 1987; McDonald-McGinn DM et al, 2001).

1.4 L'aspetto cardiologico

La del22q11 assume un ruolo di certo rilievo nella cardiologia pediatria rappresentando, dopo la Sindrome di Down, l'alterazione genetica che più frequentemente si associa ad una cardiopatia congenita.

La cardiopatia congenita è una delle più frequenti manifestazioni della del22q11: si riscontra nel 75-80% dei pazienti e permette una diagnosi precoce in epoca prenatale e neonatale (Ryan AK et al, 1997; Momma K, 2010).

Le anomalie più rappresentative sono le cardiopatie troncoconali, con interessamento del tratto di efflusso del cuore: la tetralogia di Fallot, l'atresia polmonare con difetto interventricolare, la persistenza del tronco arterioso, l'interruzione dell'arco aortico, il difetto interventricolare e le anomalie isolate dell'arco aortico. Inoltre, sono stati riportati occasionalmente ulteriori difetti cardiaci, come: difetti del setto interatriale (Ryan et al, 1997), il canale atrioventricolare di tipo completo (Marino et al, 1991), atresia della tricuspide (Marino et al, 1997), la trasposizione delle grandi arterie (Melchionda et al, 1995), ventricolo sinistro ipoplastico (Conseville et al, 1996).

Nei pazienti con del22q11 i difetti cardiaci si associano, spesso, ad anomalie cardiovascolari addizionali, che complicano l'anatomia cardiaca e le procedure

chirurgiche. Si tratta prevalentemente di anomalie a carico dell'arco aortico, dell'albero vascolare polmonare, del setto infundibolare e delle valvole semilunari (displasiche, stenotiche o insufficienti). Le anomalie dell'arco aortico comprendono l'arco aortico destro, associato o meno ad una arteria succlavia aberrante, arco aortico doppio/anello vascolare, arco aortico sinistro associato o meno con un arteria succlavia destra aberrante. A carico delle arterie polmonari può verificarsi una ipoplasia, una discontinuità, un crossing o un'assenza unilaterale, solitamente dell'arteria polmonare sinistra che origina dal dotto (Marino B et al 2001).

Approssimativamente nel 15% dei pazienti, durante controllo ecocardiografico, si evidenzia una dilatazione del bulbo aortico di incerto significato clinico, anche in adolescenti o giovani adulti.

È importante sottolineare che, mentre i pazienti con cardiopatie e del22 presentano sempre una o più anomalie extracardiache caratteristiche della sindrome, la delezione è rara in pazienti con difetti troncoconali isolati e non sindromici (Marino B et al, 2001).

Fra tutte, la Tetralogia di Fallot (TF) è la cardiopatia congenita più frequente nei pazienti con del22q11 (20-45%). A sua volta, la del22q11 è riscontrabile nel 10-15 % dei pazienti con TF, risultando la sindrome genetica più frequentemente associata alla TF. Consiste nell'associazione di più elementi anatomici: un ampio difetto interventricolare non restrittivo da malallineamento, la destro-posizione dell'aorta che si pone a cavaliere sopra il difetto settale, la stenosi infundibolare della polmonare e l'ipertrofia del ventricolo destro, secondaria ai difetti precedenti (Fig.3).

In circa il 50% dei soggetti con del22q11 e TF sono presenti delle malformazioni cardiovascolari addizionali come l'arco aortico destro o cervicale, ipoplasia o agenesia del setto infundibolare, l'assenza della valvola polmonare e la discontinuità e/o l'ipoplasia delle arterie polmonari. Al contrario, nei pazienti portatori di TF non sindromica, solo nel 15% dei casi sono presenti anomalie cardiovascolari associate (Marino B et al, 1996b, 2001; Momma K, 2010).

L'approfondita conoscenza del fenotipo cardiaco è fondamentale nella fase di scelta della corretta procedura chirurgica (es. se si associa una ipoplasia o assenza del setto infundibolare la tecnica di chiusura del VSD dovrà essere modificata). Se vengono adottate le procedure specifiche per ciascun fenotipo cardiaco, infatti, la presenza della del22q11 e delle anomalie cardiovascolari addizionali non costituisce un fattore di rischio aggiuntivo per il trattamento chirurgico (Michielon G et al, 2006, 2009; Carotti A et al, 2008).

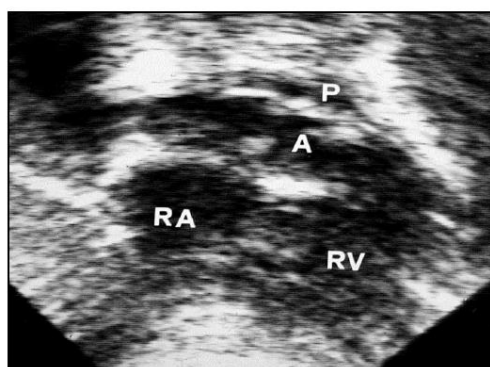


Fig.3: Immagine Ecocardiografica di TF

L'atresia dell'arteria polmonare associata a difetto interventricolare (PAVSD) è l'estrema manifestazione clinica della TF: presenta un'anatomia intracardiaca simile a quella osservata nei pazienti con TF ma l'estrema ipoplasia dell'infundibolo polmonare causa un'assenza di comunicazione diretta tra la cavità ventricolare destra e il tronco polmonare. La mancata comunicazione può essere a livello sottovalvolare/muscolare (più comune) o valvolare.

Un'altra caratteristica di questa patologia è la complessa alterazione del letto vascolare polmonare e della sua irrorazione. L'anatomia del letto vascolare polmonare e il flusso polmonare possono essere di tre tipi: una è descritta come circolazione unifocale, due come multifocali. In una circolazione unifocale tutte le arterie intrapolmonari sono connesse a delle arterie polmonari confluenti e non stenotiche la cui fonte di flusso è data da un dotto arterioso pervio (PDA). Quando

invece diversi segmenti polmonari sono irrorati da più fonti di flusso si parla di circolazione multifocale. Nel primo tipo le arterie polmonari sono confluenti ma tendenzialmente ipoplasiche, con fonte di flusso da collaterali sistemico-polmonari; nell'altro, la fonte di flusso polmonare è data sempre da collaterali sistemico-polmonari (o MAPCAs, major aorto-pulmonary collateral arteries), ma le arterie polmonari non sono confluenti. Queste collaterali originano generalmente dall'aorta discendente toracica opposta all'origine delle arterie intercostali e si estendono fino al punto di partenza delle arterie intrapolmonari a livello segmentario presso l'ilo polmonare (**Fig.4**).

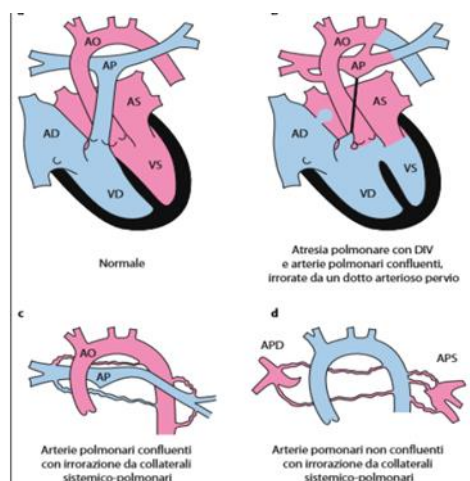


Fig.4: Tipi di vascolarizzazione nell'atresia polmonare

In alcuni studi viene considerata come tetralogia di Fallot e per questo motivo è difficile una stima precisa della sua frequenza nell'ambito della del22q11; essa varia, comunque, tra il 10 ed il 25%. In una popolazione di pazienti con PA-VSD, invece, la prevalenza della del22q11 varia dal 16 al 45% in base alla forma anatomica, risultando più alta nelle forma multifocali (50% dei casi).

La presenza della del22q11 nei pazienti portatori della PA-VSD si associa, in generale, ad una mortalità chirurgica maggiore. Questo fenomeno è in parte dovuto

alla sfavorevole anatomia polmonare dei pazienti con del22q11: sono stati descritti maggiori difetti dell'arborizzazione distale delle arterie polmonari; la broncomalacia, dovuta alla compressione estrinseca da parte dei vasi, sembra predisporre alla precoce comparsa di distress respiratorio che compromette il quadro clinico; da ricordare, anche, la maggiore suscettibilità alle infezioni post-operatorie e la tendenza ai sanguinamenti, a livello delle vie respiratorie. Questi aspetti si sommano, alla iperresponsività bronchiale tipica di tutti i pazienti con PA-VDS. A complicare ulteriormente il quadro, infine, la presenza, nei pazienti sindromici, dei difetti vascolari addizionali che includono l'arco aortico destro e/o cervicale e l'arteria succlavia aberrante. Le due strategie chirurgiche più utilizzate, in queste forme, sono rappresentate dalla palliazione (attraverso la ricostruzione del tratto di efflusso destro o attraverso shunt aorto-polmonari) che favorisce lo sviluppo delle arterie polmonari native ipoplasiche, e l'unifocalizzazione (multi step o in un tempo unico) di tutte le MAPCAs possibili. Lo scopo finale di queste tecniche è quello di creare un albero arterioso polmonare unifocale e di dimensioni adeguate a garantire una normale perfusione e di connetterlo, durante l'intervento correttivo, al ventricolo destro attraverso un condotto valvolato. Il VSD verrà chiuso. La correzione, tuttavia, non può essere eseguita se le resistenze polmonari e la pressione in ventricolo destro rimangono alte: per tale motivo è fondamentale una valutazione della compliance del letto vascolare polmonare per individuare correttamente i candidati all'intervento radicale (Marino B et al, 1996; Digilio MC et al, 1996; Anaclerio S et al, 2001; Mahle et al, 2003; Carotti A et al, 2010).

La ***persistenza del tronco arterioso (TA)*** consiste in un singolo vaso arterioso di efflusso dal cuore che rifornisce il circolo sistemico, polmonare e le coronarie. La prevalenza del TA in bambini con del22q11 varia dal 5 al 10%, mentre in pazienti con TA la prevalenza della del 22 è circa il 30-35%. Nei pazienti con del22q11 le cardiopatie addizionali sono frequenti: 10-15% dei casi ricorre una discontinuità delle arterie polmonari (l'arteria polmonare dotto dipendente è di solito la sinistra connessa

ad un arco aortico sinistro), nel 30% vi è una displasia severa della valvola tronciale (a volte con stenosi); l'interruzione dell'arco aortico è presente nel 10-20% dei casi mentre nel 18% anomalie delle arterie coronarie (es. percorso intramurale delle coronarie). La correzione chirurgica standard del TA viene attuata nei primi 2-3 mesi di vita e consiste nella chiusura del VSD e nella connessione, tramite condotti valvolati, del ventricolo destro all'arteria polmonare e di quello sinistro all'aorta. Ancora una volta, tuttavia, sarà la conoscenza del fenotipo cardiaco a guidare la tecnica ed il timing chirurgico: in presenza di una dottodipendenza (IAA o discontinuità delle polmonari) sarà necessario anticipare l'intervento ai primissimi giorni di vita; l'eventuale presenza di anomalie coronariche andrà ricercata durante l'intervento per evitare il loro danneggiamento al momento dell'intervento, mentre in caso di insufficienza della valvola tronciale, sarà necessario procedere alla sua plastica (Carotti A et al, 2008).

L'interruzione dell'arco aortico (IAA) causa una completa discontinuità tra l'aorta ascendente e discendente; quest'ultima è rifornita dall'arteria polmonare attraverso il dotto arterioso. Si associa costantemente al VSD. Esistono tre forme anatomiche di IAA: nel tipo A l'interruzione si colloca distalmente all'arteria succlavia sinistra, nel tipo B tra la carotide e la succlavia sinistra, nel tipo C tra il tronco anonimo e la carotide sinistra. L'IAA è presente nel 5-20 % dei casi con del22q11, mentre nei pazienti con IAA la del22q11 è presente nel 45-50% dei casi. La sindrome ricorre maggiormente nelle interruzioni prossimali (B e C) e, in particolare, nel 60-80% dei pazienti con IAA di tipo B: si tratta di una delle cardiopatie troncoconali più correlate a sindromi genetiche. Anche in questo caso contribuiscono al fenotipo cardiaco alterazioni addizionali: la succlavia destra aberrante, il setto infundibolare è spesso ipoplasico e deviato posteriormente, la valvola aortica può essere displasica; più raramente si associano un arco aortico destro o il TA (Marino B et al, 1999). Il trattamento del IAA consiste nella correzione in un unico intervento, eseguito in età neonatale. Alla ricostruzione dell'arco aortico si associa la chiusura del VSD e, se necessario, la correzione dell'ostruzione subaortica. La tecnica, ovviamente, e l'esito

dell'intervento verranno influenzati dalla copresenza di altre anomalie: nonostante la del22q11 non sia ancora definitivamente considerata un fattore di rischio chirurgico, l'anatomia cardiaca tipicamente associata a questa sindrome genetica complica le procedure chirurgiche ed incrementa la mortalità post-operatoria (McCrindle et al, 2005).

Il difetto interventricolare (VSD) è presente nel 10-50% dei soggetti con del22q11. Si tratta generalmente di un VSD perimembranoso. Anche un VSD sottoarterioso è frequente, a causa del coinvolgimento del setto infundibolare. Il VSD pu essere ampio o restrittivo. Nel 40% dei VSD sottoaortici, soprattutto se di piccole dimensioni, si associa il prollasso di una cuspid e aortica, probabilmente a causa di un importante effetto Venturi. Il VSD muscolare è estremamente raro nei pazienti con del22q11. Sono, invece, più frequenti le anomalie addizionali di posizione e di diramazione dell'arco aortico. Riguardo la chiusura chirurgica del VSD, non ci sono dati che dimostrino una differenza tra i pazienti con o senza delezione nella prognosi peri e post-operatoria (Toscano A et al, 2002).

Sulla base di questi dati è lecito sostenere che un'accurata analisi delle caratteristiche del fenotipo clinico, compreso il fenotipo cardiovascolare, sia in grado di individuare i pazienti con cardiopatie troncoconali, possibili portatori della del22q11, candidati all'approfondimento diagnostico tramite FISH. L'indicazione all'indagine genetica si pone in tutti i casi di TA, PA-VSD, IAA tipo B, a causa dall'alta prevalenza della sindrome in queste cardiopatie. Nelle altre cardiopatie congenite, compresa la TF e il VSD, l'indagine FISH è giustificata solo in presenza di altre anomalie cardiache ed extra-cardiache (Marino B et al, 2001).

Un dato importante, infine, si evince da recenti studi volti ad indagare la prevalenza di cardiopatie congenite non sindromiche nelle famiglie dei pazienti con del22q11: è stato suggerito che la presenza di un familiare affetto da tale sindrome contribuisca ad aumentare la suscettibilità familiare per le cardiopatie congenite isolate, oltre a quelle dovute al rischio di ricorrenza della del22q11 (Digilio MC et al, 2005).

Considerando che le patologie a carico dell'apparato cardiovascolare rappresentano circa il 90% di tutte le cause di mortalità in bambini con del22q11, la valutazione cardiologica completa, comprensiva di visita specialistica, elettrocardiografia ed ecocardiografia color-doppler, rappresenta un momento fondamentale della diagnosi. La risoluzione ecocardiografica, tuttavia, spesso non è ottimale per le strutture vascolari extracardiache e frequentemente si pone l'indicazione all'angioplastica, AngioTC o alla RMN. Si dovrà scegliere, quindi, la strategia terapeutica più adeguata al paziente: quest'ultima, infatti, va sempre il più possibile personalizzata tenendo in considerazione il fenotipo cardiaco ed il quadro sindromico associato. In alcuni casi si pone l'indicazione ad un intervento cardochirurgico urgente; in altri casi si opterà per un programma di follow-up clinico strumentale.

1.5 Diagnosi e Management

Le manifestazioni cliniche caratteristiche che possono condurre alla diagnosi variano per età. Nell'infanzia i sintomi tipici includono una combinazione di difetti cardiaci congeniti, infezioni croniche, rigurgito nasale, voce ipernasale, ipocalcemia, difficoltà di alimentazione, ritardi nello sviluppo e nel linguaggio, alterazioni comportamentali e disabilità di apprendimento. Le anomalie renali, l'ipotiroidismo, la bassa statura, le anomalie vertebrali, il piede torto, la polidattilia e la scoliosi, la trombocitopenia, la perdita dell'udito, la microcefalia, le crisi idiopatiche e l'ipotonia sono meno frequenti. Nell'adolescenza e nell'età adulta, le anomalie comportamentali, in molti casi indicative di malattia psichiatrica (emergente), possono portare alla diagnosi, frequentemente, ma non sempre, con una storia di condizioni mediche associate, quali ipocalcemia o difficoltà di apprendimento. La presenza di caratteri facciali sottili ma caratteristici può aiutare con l'identificazione in qualsiasi età. Tuttavia, l'opportunità di diagnosi può essere persa quando mancano tipiche caratteristiche craniofacciali e altre tipiche caratteristiche congenite quali difetti cardiaci o palatali. Alcuni adulti sono diagnosticati solo dopo la nascita di un bambino affetto. (McDonald- McGinn et al, 2011).

Il sospetto clinico pone, quindi, l'indicazione all'analisi citogenetica **FISH** (fluorescence in situ hybridization), che dimostra la delezione nella banda 22q11.2, confermando la diagnosi clinica. La tecnica FISH è un metodo accurato ma costoso ed è necessario attendere alcuni giorni i risultati. Un dubbio diagnostico compare quando in un paziente, con un fenotipo tipico della sindrome, l'analisi FISH non rileva alcuna delezione (5-10%). Questi pazienti potrebbero essere portatori di una delle delezioni a carico di altri cromosomi (es. 10p), atipiche, di mutazioni puntiformi (es. a livello di TBX1) o di microdelezioni a livello del braccio lungo del cromosoma 22 troppo piccole per essere identificate con la FISH (Coppinger J et al, 2009).

Attualmente, una nuova metodica molecolare (multiplex ligation probe-dependent amplification – **MLPA**) permette di identificare più facilmente le microdelezioni e le delezioni atipiche non identificate dalla FISH. Si tratta, inoltre, di una tecnica rapida e con un buon rapporto costo-benefici (Fernandez L et al, 2005).

Un'altra alternativa diagnostica è rappresentata dalla **SNP** (single nucleotide polymorphism) **microarrays**. Si tratta di una tecnica costosa e con tempi di attesa paragonabili a quelli della FISH. L'enorme vantaggio, però, è che essa consente di effettuare analisi di espressione genica su scala genomica, per cui contemporaneamente e con la stessa sensibilità vengono analizzate delezioni tipiche, atipiche e degli altri cromosomi. L'uso di questa tecnica ha portato il dato che il 10-15% delle delezioni sono atipiche (McDonald-McGinn DM et al, 2011).

La diagnosi prenatale è possibile effettuando la FISH o SNP arrays su colture di amniociti o villi coriali. È un mezzo diagnostico importante soprattutto per migliorare la prognosi della cardiopatia: riconoscerla, infatti, permette di programmare interventi cardiocirurgici mirati, anche per i primi giorni di vita, prevenendo in parte danni in epoca neonatale.

Nella pratica clinica esso viene eseguito, di solito, nei casi in cui la del22q11 sia familiare o qualora si riscontri, durante una ecocardiografia fetale, una cardiopatia (tronco-conale) del feto. Studi, eseguiti per indagare eventuali segni patologici

riportati dalle indagini ecografiche prenatali dei pazienti con del22q11, hanno osservato anche altri rilievi frequenti, quali polioidramnios, palatoschisi, polidattilia, malformazioni renali. Questi segni ecografici “minori” vanno ricercati in un feto cardiopatico come elementi complementari del sospetto diagnostico di del22q11.

In caso di positività dell’analisi citogenetica, eseguita sia in fase prenatale che postnatale, è consigliabile eseguire lo stesso esame nei genitori, per verificare l’eventuale familiarità della patologia. L’identificazione dello stato di portatore della delezione, infatti, è indispensabile per una corretta consulenza genetica: tutti i soggetti portatori devono essere avvisati del rischio di ricorrenza (50%) della sindrome nella propria progenie e della variabilità del fenotipo clinico anche intrafamiliare. Nel caso in cui entrambi i genitori non presentino la delezione, invece, il rischio di ricorrenza della sindrome in un altro figlio è stimata essere intorno all’1%: le eventuali successive gravidanze andranno comunque sorvegliate, con l’indicazione ad effettuare lo screening prenatale (McDonald-McGinn et al, 2011).

Il tipo e i tempi dell’approccio terapeutico variano, soprattutto, in base al fenotipo ed all’età del singolo paziente. La sindrome presenta, infatti, un carattere dinamico, per cui ogni età presenta delle problematiche diverse. È necessario sensibilizzare i pediatri di base sulla variabilità clinica della sindrome e sulla frequenza dei quadri atipici: essi sono, spesso, i primi medici cui si rivolgono le famiglie davanti alle problematiche di questi bambini; una corretta diagnosi sarà in grado di evitare iter diagnostici e tentativi terapeutici sbagliati, e di prevenire le conseguenze di una cronicizzazione della problematica. Solo in questo modo, infine, il paziente, la sua famiglia ed il pediatra stesso potranno essere preparati alle possibili problematiche future, saranno in grado di riconoscerle e affrontarle in maniera adeguata.

La capacità dei pazienti con del22q11 di comprendere la loro condizione medica e la necessità di un trattamento adeguato potrebbe essere compromessa, specialmente se in presenza di un ritardo cognitivo o una patologia neuropsichiatrica. Semplici accorgimenti per migliorare la gestione del paziente e implementarne la compliance,

posso essere messi in atto, fornendo istruzioni chiare, semplici e preferibilmente scritte e monitorando l'assunzione della terapia con il supporto dei caregivers.

Occupazioni part-time sono da preferire per i pazienti che entrano nel mondo del lavoro, ancora meglio se intervallate da numerosi break, considerando che la sensibilità allo stress e un alto indice di fatica espresso in termini di **MFI-score** (Multidimensional Fatigue Inventory) possono accompagnare le condizioni mediche o neuropsichiatriche della sindrome (Vergaelen E, 2016).

2. Il Test da sforzo Cardiopolmonare

Il test cardiopolmonare è una procedura diagnostica non invasiva che misura la risposta integrata del sistema cardiovascolare, respiratorio muscolo-scheletrico, neuro-psicologico ed emopoietico durante un esercizio muscolare crescente. Tale esame, a differenza del test da sforzo, ci permette di valutare la capacità massima di compiere un lavoro muscolare, attraverso il massimo consumo di ossigeno per quel soggetto.

Il **CPET** (cardiopulmonary exercise test), in passato, veniva utilizzato prevalentemente nei centri specializzati; oggi invece, trova un largo impiego nella clinica e nella valutazione dei sintomi legati all'esercizio fisico e per questo risulta ben distribuito sul territorio. L'uso del CPET nella gestione del paziente ha subito un importante incremento, in quanto i test funzionali cardiaci e polmonari a riposo non predicono e non correlano con la capacità di esercizio di un individuo e, più in generale, con il suo stato di salute (ATS/ACCP, 2003).

L'attrezzatura consiste in un ergometro o un treadmill, un elettrocardiografo dotato delle 12 derivazioni standard, un pneumotacografo (che serve a misurare la ventilazione polmonare) abbinato ad un analizzatore di gas (ossigeno e anidride carbonica), il tutto gestito da un software. Il paziente viene collegato a questa apparecchiatura per mezzo di un boccaglio dotato di rilevatore del respiro. Questo strumento trasmette, analizzando respiro per respiro, l'andamento del consumo di ossigeno e la produzione dell'anidride carbonica. I due ergometri più utilizzati nel laboratorio dell'esercizio fisico sono il tappeto rotante o treadmill ed il cicloergometro. Quest'ultimo risulta meno costoso e più trasportabile, necessita di meno personale e coinvolge una minor percentuale di massa muscolare, ma sottostima la misurazione del VO₂max e soprattutto richiede un'elevata abilità del paziente.

Le indicazioni al test da sforzo cardiopolmonare sono numerose: identificazione delle limitazioni alla tolleranza allo sforzo fisico e delle relative cause; discriminazione tra dispnea di origine cardiaca e polmonare; valutazione funzionale e prognostica in caso

di insufficienza cardiaca; valutazione funzionale durante lo sforzo di patologie polmonari croniche (malattie polmonari interstiziali, broncopneumopatia cronica ostruttiva, malattia cardiaca occulta, occlusione vascolare polmonare cronica, fibrosi cistica); diagnosi di asma da sforzo; valutazione preoperatoria per interventi di resezione polmonare, per trapianto di polmone o cuore-polmone; programmi di riabilitazione.

L'esecuzione del test cardiopolmonare è gravata da un rischio bassissimo, che nelle diverse casistiche oscilla tra 2 e 5 decessi ogni 100.000 test eseguiti. Questo rischio è legato sempre a patologie cardiache, spesso misconosciute, quali aritmie maligne o recenti ischemie miocardiche. Pertanto, prima di sottoporre il soggetto all'esame, è necessario valutare le eventuali controindicazioni all'esecuzione del test.

Nella **Tab. 1** sono indicate le controindicazioni relative e assolute al test, espresse nelle linee-guida dell' ACC/AHA (American College of Cardiology/American Heart Association) del 1997.

| ASSOLUTE | RELATIVE |
|---|--|
| Recente IMA | Stenosi dell'arteria coronaria sinistra o suo equivalente |
| Angina instabile non controllato con terapia | Alterazioni elettrolitiche |
| Aritmie cardiache non controllate che causano sintomi o compromissione emodinamica | Cardiomiopatia ipertrofica a altre forme di ostruzione al tratto di efflusso |
| Stenosi aortica severa sintomatica | Ipertensione arteriosa non controllata |
| Embolia polmonare acuta o infarto polmonare | Tachiaritmie o braditrie |
| Scompenso cardiaco sintomatico | Stenosi valvolare di grado moderato |
| Miocardite o pericardite acuta | Incapacità di eseguire adeguatamente il test per deficit fisico o mentale |
| Dissezione aortica acuta | Blocco AV di grado elevato |

Tab. 1: Controindicazioni assolute e relative all'esecuzione del CPET

L'ECG, la FC e la PA devono essere continuamente controllati durante l'esecuzione della prova prestando particolare attenzione nel ricercare segni e sintomi descritti nella **Tab. 2**, il cui manifestarsi impone l'obbligo di interrompere il test. Nell'eventualità che insorgano aritmie o sintomi che richiedano interventi urgenti, la prova da sforzo deve essere sempre eseguita in un ambiente idoneo preparato all'emergenza (farmaci, defibrillatore, ossigeno) ed alla presenza di personale medico ed infermieristico esperto in questo campo. Prima di eseguire il test da sforzo è necessario fornire al paziente alcuni consigli: consumare un pasto leggero circa due ore prima del test, indossare indumenti confortevoli, non eseguire esercizi intensi nelle 24h precedenti e non assumere farmaci. Occorre spiegare al paziente le modalità del test da sforzo e ottenere il consenso informato scritto (Tancredi G et al, 2006).

| SEGNII e SINTOMI |
|--|
| Dolore toracico acuto |
| Pallore improvviso |
| Perdita di coordinamento |
| Segni di confusione mentale |
| Intensa dispnea |
| Depressione del segmento ST>0,2mV |
| Inversione dell'onda T |
| Tachicardia ventricolare |
| Ipertensione significativa (sistolica>250mmHg e diastolica >130mmHg) |
| Caduta della pressione sistolica al di sotto dei valori a riposo o di almeno 20mmHg rispetto al più alto valore registrato durante l'esercizio |

Tab. 2: Segni e sintomi che obbligano l'interruzione del test

2.1 Parametri del test

La Pressione arteriosa (PA) è un importante parametro da valutare durante il test da sforzo. Essa è in funzione della gittata cardiaca e delle resistenze periferiche. Fisiologicamente la PA sistolica aumenta progressivamente con l'aumentare del carico di lavoro per poi tornare ai valori di riposo entro il sesto minuto di recupero. La PA diastolica invece non subisce notevoli variazioni durante il test restando per lo più costante o diminuendo (effetto dovuto alla vasodilatazione periferica in risposta all'esercizio).

La Frequenza cardiaca (FC) fisiologicamente aumenta con il progredire della prova e quindi con l'incremento dello sforzo fisico, fino al raggiungimento dell'85 – 90 % della FC massima teorica. La FC massima si può stimare con una semplice operazione: 220-l'età del paziente. Durante la fase di recupero, la FC tende a tornare entro i valori di riposo con velocità direttamente proporzionale al livello di allenamento del soggetto.

L'Heart Rate Recovery first minute (HRR) è un indice importante riguardante lo stato fisico del paziente e il grado di allenamento. Rappresenta la differenza tra la FC massima raggiunta all'acme dello sforzo e quella al termine del primo minuto di

recupero. L'HRR è un parametro di intensità nell'esercizio cardiovascolare ed è considerato un indice prognostico negativo per valori inferiori a 12 bpm (Cole CR et al, 1999).

Un tempo di esercizio (TE) adeguato all'età indica una prognosi favorevole. È un parametro facile da rilevare e consente di ricavare con immediatezza le informazioni prognostiche. Utilizzando il tempo di esercizio si possono confrontare prove successive dello stesso paziente e prove di pazienti diversi, ma solo se eseguite utilizzando lo stesso protocollo; per confrontare test ergometrici svolti con protocolli differenti bisogna esprimere le capacità di esercizio in METS.

I METS (equivalenti metabolici), insieme al tempo di esercizio, sono un indice indiretto della capacità funzionale dell'individuo; esprimono il costo di un esercizio in termini di energia ed ossigeno. Il valore di un MET corrisponde al metabolismo energetico in condizioni di riposo. Si assume che un MET equivalga ad un consumo di ossigeno di 3,5 ml per kg di peso corporeo per minuto ($1 \text{ MET} = 3,5 \text{ ml/kg/min}$). E' possibile, quindi, usare il concetto di MET per stimare il consumo energetico di un esercizio fatto da un determinato soggetto, conoscendo la massa del soggetto ed il livello di METS corrispondente a quell'esercizio (Sforzo lieve < 2,5 METS, sforzo moderato 2,5-6 METS, sforzo vigoroso > 6 METS).

Il consumo di ossigeno (VO₂) aumenta rapidamente durante le fasi iniziali dell'esercizio con l'intensificarsi dello sforzo. Il massimo consumo di ossigeno (**VO₂max**) è la massima quantità di ossigeno che un soggetto può assorbire dall'aria inspirata quando è sottoposto ad uno sforzo dinamico che interessi larga parte della massa muscolare totale. È considerato il parametro più affidabile dello stato cardiovascolare e della risposta all'esercizio fisico (Bouchard C et al, 1999). La formula per calcolare il consumo massimo di ossigeno è:

$$\text{VO}_2\text{max} = [\text{FC} \times \text{GS} \times (\text{CaO}_2 - \text{CvO}_2)] \text{ max}$$

VO₂max è uguale al prodotto della massima gittata cardiaca e della massima differenza di ossigeno arterovenoso. Poiché la gittata cardiaca è uguale al prodotto della gittata sistolica per la frequenza cardiaca e poiché la gittata sistolica aumenta solo fino ad un certo livello, VO₂ è direttamente legato alla frequenza cardiaca. La massima differenza arterovenosa VO₂ (che aumenta con l'intensità dell'esercizio fisico) durante lo sforzo ha un limite fisiologico che va dal 15% al 17% di volume; di conseguenza, al raggiungimento del massimo carico di lavoro, VO₂ max può essere usato per stimare la massima gittata cardiaca. VO₂ max è influenzato dall'età, dal sesso, dal livello di allenamento, da fattori ereditari e dallo stato clinico cardiovascolare. Il massimo valore di VO₂ max si ha tra i 15 e 30 anni; diminuisce poi progressivamente con l'età (**Fig.5**). Il declino in VO₂ max è in media tra l'8% e il 10% ogni dieci anni tanto nei soggetti che praticano attività sportiva quanto nei soggetti sedentari. Nelle donne VO₂ max ha un valore più basso e ciò è da attribuire alla minor massa muscolare ed al più basso valore di emoglobina, di volume sanguigno e di gittata sistolica delle donne rispetto agli uomini. Infine, differenze nel valore di VO₂max sono da attribuire a fattori genetici.

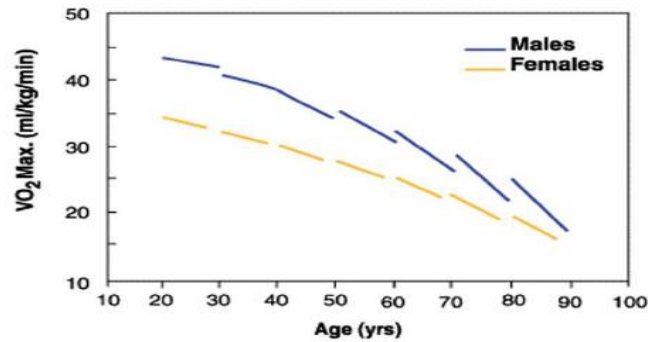


Fig. 5: Valori di VO₂max in funzione dell'età e del sesso in soggetti sani

La soglia anaerobica (AT) è una stima della capacità di sostenere un esercizio prolungato. Rappresenta il punto di attivazione massiccia del meccanismo anaerobico, cioè quel punto di demarcazione fra esercizio moderato ed intenso. Oltre questo punto la produzione di anidride carbonica (CO₂), la ventilazione ed il livello di acido lattico prodotto crescono rapidamente. La soglia dei lattati è espressa come % del VO₂ max predetto . Di solito si verifica al 50-60 % del VO₂ max predetto in soggetti sedentari, ma il range di normalità si può estendere fino all'80% nei soggetti allenati (**Fig. 6**). Essa dipende strettamente dall'età e dal protocollo utilizzato: con il cicloergometro sono stati riscontrati valori inferiori rispetto al treadmill.

Il quoziente respiratorio (RQ) corrisponde al rapporto VCO₂/VO₂. Fisiologicamente, nelle fasi iniziali dello sforzo, la VO₂ e la VCO₂ crescono linearmente al carico di lavoro e il valore del rapporto VCO₂/VO₂ è di 0,8. Al raggiungimento della AT e quindi per carichi di lavoro più intensi, invece, raggiunge valori di circa 1 a causa di una quota addizionale di VCO₂ che viene liberata a livello tissutale per tamponare l'acido lattico con i bicarbonati plasmatici

(HCO₃). Il cambio di pendenza del rapporto VCO₂/VO₂ durante lo sforzo viene utilizzato per determinare in modo non invasivo la soglia a dei lattati (**metodo “V slope”**) (**Fig.7**).

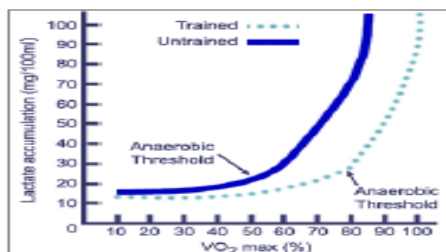


Fig. 6: Soglia dei lattati espressa in funzione della % della VO₂max predetta in soggetti sedentari e atleti

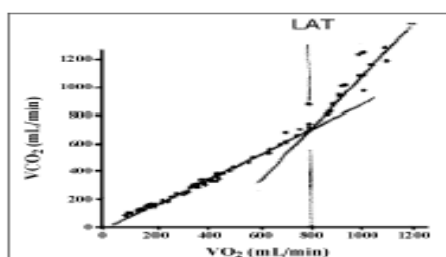


Fig. 7: Rapporto VCO₂/VO₂ (Quoziente Respiratorio) e AT (soglia anaerobica)

3. La Spirometria

La spirometria rappresenta l'indagine più utilizzata per lo studio della funzionalità respiratoria; si basa su due principali grandezze fisiche: i volumi mobilizzati dal sistema respiratorio e la velocità della mobilizzazione. Apparentemente un esame di facile realizzazione, la spirometria richiede una stretta collaborazione tra il soggetto esaminato e l'esaminatore, in quanto la validità dei risultati dipende strettamente dal rispetto e la standardizzazione di protocolli operativi nella realizzazione delle manovre respiratorie. Per questo, risulta di difficile realizzazione nei bambini al di sotto dei 5-6 anni.

È un esame insostituibile per lo screening del benessere respiratorio generale tuttavia non dà informazioni cliniche che riconducano direttamente ad una diagnosi eziologica.

La corretta esecuzione dell'intera sequenza di procedura dell'esame spirometrico comprende tre distinte fasi:

- Inspirazione massimale fino alla capacità polmonare totale (TLC)
- Espirazione veloce e massimale
- Espirazione completa e prolungata fino al raggiungimento del volume residuo (RV)

I principali parametri valutati con l'esame spirometrico sono:

- FVC: Capacità Vitale Forzata (Forced Vital Capacity): massimo volume di aria espirato a partire da un'inspirazione massimale fino a livello di RV non eliminabile. Un valore >80% è considerato normale.

- FEV1: Volume Espiratorio Forzato in 1'' (Forced Expiratory Volume 1''): volume di aria espirato nel 1'' durante un'espiazione forzata. È un parametro che si ottiene dall'analisi del volume in rapporto al tempo ed è sforzo dipendente. Il riscontro di un valore >80% del predetto definisce il valore normale

- FEV1/FVC :Indice di Tiffenau: è il rapporto tra il volume espirato in 1'' e la capacità vitale forzata. È il parametro più sensibile per la valutazione della limitazione di flusso delle vie aeree nelle patologie ostruttive (valori <83-85%).

- PEF% :Picco di Flusso (Peak Expiratory Flow): è il flusso massimo raggiunto nei primi 100-200msec della curva espiratoria, fornisce informazioni sul calibro delle grandi vie aeree. Se il valore di PEF è >80% del teorico è considerato normale.
- FEF25-75 % o MMEF : Flusso espiratorio forzato medio: esprime il flusso medio calcolato nella porzione di curva espiratoria forzata compresa tra il 25% e il 75% della FVC. Rappresenta un parametro sforzo-indipendente, essendo misurato oltre il primo 25% dell'FVC, e rappresenta un indice delle resistenze delle vie aeree periferiche. Negli stadi precoci di ostruzione, può essere l'unico segno di disfunzione ventilatoria di grado molto lieve.
- MEF50% – Flusso Espiratorio Forzato 50% del FVC (Maximal Expiratory Flow 50%): è un parametro utile nella valutazione delle vie aeree di minore calibro, è molto utilizzato in pediatria e si riduce precocemente in caso di asma bronchiale. Il valore normale inteso come % del predetto, deve essere >70%.

È possibile rappresentare la manovra di espirazione forzata con una curva flusso-volume: ad ogni momento viene riportato il flusso istantaneo ed il volume corrispondente. Il flusso (in ordinata) è misurato in L/secondo e il volume (in ascissa) in L. La validità dell'esame si basa sulla presenza di almeno 3 curve esenti da difetti tecnici di esecuzione (definite "curve accettabili"). L'interpretazione dei risultati è ottenuta in rapporto a due diverse modalità: quella intraindividuale ossia nel corso di valutazioni longitudinali dello stesso paziente, e quella interindividuale, mediante la possibilità di confronto con gli standard di riferimento della popolazione normale, i "predetti", in funzione dell'età, dell'altezza, del sesso e della razza del paziente. L'analisi dei flussi espiratori forzati compiuta dalla spirometria non consente di porre una diagnosi precisa, ma solo di stabilire la presenza di un'ostruzione delle vie aeree ed eventualmente stabilirne il grado. È quindi importante inquadrare i dati spirometrici ottenuti con l'anamnesi e il quadro clinico del soggetto in esame, per porre una specifica diagnosi di patologia respiratoria. Poiché esiste una grande

variabilità tra soggetti normali, sono generalmente considerati normali valori compresi tra l'80% e il 120% del teorico (Miller MR et al, 2005).

La spirometria è un test diagnostico affidabile e di facile esecuzione in caso di malattie respiratorie, screening di soggetti a rischio per malattie polmonari, follow-up terapeutico e valutazione dell'idoneità all'attività sportiva.

4. Lo studio clinico I

4.1 Background e scopo dello studio

La delezione 22q11.2 è una sindrome genetica causata da una microdelezione del braccio lungo del cromosoma 22, caratterizzata da un'alta variabilità fenotipica e in circa l'80% dei casi si accompagna ad una cardiopatia congenita.

Appena scoperta, la sindrome è stata classificata nel gruppo delle patologie da deficit del sistema immunitario ed ancora oggi, erroneamente, viene presentata così in molti libri di testo. In realtà, la prima causa di morte pre e neo natale, era rappresentata dalle complicanze cardiologiche per le cardiopatie maggiori che caratterizzano questi pazienti. La conoscenza anatomica, il miglioramento delle tecniche chirurgiche, associato ad una diagnosi precoce della sindrome, anche in epoca prenatale, e i grandi passi in avanti della terapia intensiva neonatale hanno comportato una riduzione del tasso di mortalità infantile associato alla del22q11. Oggi assistiamo, quindi, ad un aumento della durata della vita media dei pazienti e quindi a dover affrontare questioni in merito alla gestione del paziente adulto con del22q11 e al miglioramento della loro qualità della vita.

Il paziente con la del22q11 è un paziente difficile da gestire, soprattutto per le numerose condizioni mediche associate, anche di tipo neuropsichiatrico. Si tratta, spesso di pazienti in sovrappeso, obesi, con ritardo mentale, psicosi, dismorfie facciali e problemi nel linguaggio e nella comunicazione. Tutti questi fattori favoriscono l'isolamento sociale e uno **stile di vita sedentario**.

Negli ultimi 20 anni, sono stati condotti numerosi studi che hanno permesso di valutare la fitness cardiorespiratoria in pazienti con cardiopatia congenita non sindromici (Rhodes JMD et al, 2010). Sono scarsi, invece, in letteratura i dati relativi ai pazienti con sindromi genetiche con o senza cardiopatia congenita: nello studio di Pastore et al del 2000 sono stati valutati i pazienti con la Sindrome di Down non cardiopatici con lo scopo di promuovere una regolare attività fisica in questi pazienti che, fino ad allora, vivevano con numerose limitazioni e restrizioni; nel 2013 il gruppo guidato da Tancredi et al ha studiato la risposta all'esercizio fisico nei

pazienti con la Sindrome di Turner. Non dobbiamo dimenticare che questi pazienti senza cardiopatia congenita presentano comunque un danno di tipo genetico e tissutale causato dalla delezione a livello cardiaco, associato spesso ad anomalie extracardiache come la pulmonary crossed arteries, bulbo aortico dilatato o un ispessimento ventricolare ai limiti alti della norma.

Gli outcomes primari di questo studio caso-controllo sono stati, quindi, quelli valutare sia la funzionalità cardiaca, a riposo e sotto sforzo, sia la tolleranza all'esercizio fisico e il pattern respiratorio mediante test da sforzo cardiopolmonare e spirometria, in soggetti adolescenti e in età adulta affetti dalla sindrome da del22q11 non cardiopatici, confrontandoli con un gruppo di controllo. L'obiettivo ultimo è quello di incentivarli a intraprendere una regolare attività fisica.

Il più delle volte, la sindrome viene vissuta dal paziente e dai suoi genitori con eccessiva ansia, scatenando un comportamento iperprotettivo e la decisione di non praticare alcuna attività sportiva. D'altra parte pediatri, medici di base e medici dello sport spesso non sanno come comportarsi di fronte alla richiesta di un certificato per sport agonistico o non agonistico, perchè non esistono chiare linee guida a riguardo.

È riscontrato come adolescenti, con e senza patologia respiratoria, tendono con il tempo a impegnarsi sempre meno nell'attività fisica e questo andrebbe prevenuto con opportuni strumenti di educazione e promozione. È ormai accertato che l'esercizio fisico ha un effetto positivo non soltanto sul fisico ma anche sul benessere generale. Uno studio del 2012 di Steven C. Moore et al, ha dimostrato che svolgere un'attività fisica quotidiana regolare e di media intensità permette, ancor di più di una alimentazione adeguata, di guadagnare anni di vita e migliorare la qualità della stessa, a dispetto dei soggetti totalmente inattivi.

4.2 Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto presso il Servizio di Medicina dello Sport della U.O.C di Cardiologia e Pneumologia pediatrica (Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria infantile – “Sapienza” Università di Roma) in collaborazione con la “Aidel22 ONLUS” (Associazione Italiana Delezione del Cromosoma 22) dal mese di Novembre 2015 a Ottobre 2017.

Lo studio ha coinvolto 20 soggetti adolescenti e adulti affetti dalla del22q11 senza cardiopatia congenita, 16 maschi e 4 femmine, con un'età media di $27,44 \pm 9,43$ (range 14,7- 46,5 anni) nell'ambito dei periodici follow-up organizzati nella nostra struttura.

I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un gruppo di controlli, costituito da 22 soggetti esenti da patologie croniche con un'età media di $26,2 \pm 7,3$ (range 17,2-46,3) che accedevano al Servizio di Medicina dello Sport della UOC di Cardiologia Pediatrica della stessa clinica, per idoneità sportiva non agonistica. Un consenso informato è stato richiesto a tutti i partecipanti o ai genitori, se minorenni, di entrambi i gruppi di pazienti.

Tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti ad una visita medica preliminare, comprendente un'anamnesi accurata individuale e familiare e un esame obiettivo completo, durante il quale vengono anche rilevati i parametri antropometrici (peso, altezza e BMI) e la pressione arteriosa a riposo. L'altezza sarà misurata senza scarpe, in piedi, utilizzando lo stadiometro standard. Il peso corporeo è stato misurato con l'abbigliamento più leggero con un'approssimazione di 0,1 Kg su una scala meccanica. Il BMI sarà calcolato e determinato dal peso in kg diviso per l'altezza in metri². È stata richiesta ad ogni paziente una copia della diagnosi genetica (FISH, CGH-array) che dimostrasse la del22q11. Sono stati esclusi coloro che presentavano controindicazioni al test da sforzo (cfr. **Cap 2: Il Test da Sforzo Cardiopolmonare**).

Si è provveduto, quindi, ad uno studio ecocardiografico transtoracico completo eseguito con Ecocardiografo Philips, modello Sonos 5500 (Philips, Andover, Massachusetts); l'acquisizione delle immagini è stata effettuata utilizzando sonde S4. L'esame è stato eseguito con il paziente in posizione supina e in decubito laterale sinistro da uno stesso operatore e su 3 cicli cardiaci consecutivi. In questo modo si è esclusa la presenza di una cardiopatia congenita o un difetto cardiaco maggiore nei pazienti arruolabili; anomalie cardiache e/o extracardiache minori e di scarsa rilevanza clinica sono state considerate accettabili (la crossed pulmonary arteries,

bulbo aortico lievemente dilatato, arco aortico destroposto, setto interventricolare ai limiti alti della norma.).

Criteri d'inclusione:

- Pazienti con delezione 22q11.2, con diagnosi genetica (FISH, CGH-array)
- Assenza di cardiopatia o difetti cardiaci maggiori
- Buone condizioni generali
- Capacità di eseguire il test da sforzo e la spirometria

Ogni soggetto è stato sottoposto a spirometria (curva flusso-volume e volume-tempo) a riposo, tramite un apparecchio analizzatore dei gas aspirati Cosmed Quark PFT 4 ergo, in accordo con le linee guida dell'American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force (ATS/ERSTF, 2005), per determinare i seguenti parametri: capacità vitale forzata (FVC), volume espiratorio forzato al primo secondo (FEV1), indice di Tiffenau (FEV1/FVC), picco di flusso espiratorio (PEF), e flusso espiratorio forzato al 50% della capacità vitale (FEF50). I risultati sono stati espressi come percentuale del valore predetto, ottenuto tramite algoritmi basati sull'età, il peso, l'altezza e il sesso (cfr. **Cap. 3: La Spirometria**).

Prima di avviare la procedura di esecuzione è necessario effettuare quotidianamente la calibrazione dello strumento utilizzando una pompa a siringa di volume noto (1-3L), in dotazione con l'apparecchio.

Su tutti i pazienti è stato eseguito un elettrocardiogramma a 12 derivazioni a riposo con apparecchiatura Norav Medical L.t.d. versione 5.515 con modulo PC-ECG 1200W. Prima di applicare gli elettrodi è importante preparare la cute mediante rasatura e detersione con una garza satura di alcool; tali precauzioni sono necessarie per migliorare la trasmissione del segnale elettrico durante la prova, riducendo la resistenza della cute a meno di 5000 Ohm. Gli elettrodi applicati sono, per motivi igienici, adesivi e monouso. I cavi, leggeri, flessibili e schermati hanno durata di circa un anno, passato il quale devono essere sostituiti. Per migliorare la ricezione del

segnale e la nitidezza del quadro elettrocardiografico è spesso consigliato bloccare gli elettrodi e le porzioni distali dei cavi tramite cerotti o retine elastiche, modellate sul torace del paziente.

Tutti i soggetti hanno effettuato un test da sforzo cardiopolmonare (CPET) su treadmill (RAM 770 CE), secondo il protocollo Bruce (Fig.8) , che consiste nell'aumentare la velocità e la pendenza del tappeto ogni 3 minuti fino ad esaurimento muscolare o al raggiungimento almeno dell'85% della Frequenza Cardiaca massimale del soggetto (calcolata mediante la formula $220 - \text{età in anni}$); il test finisce comunque al raggiungimento del 21' ad una pendenza del tappeto rotante del 22% associata ad una velocità di 9,7 Km/h. Dopo il raggiungimento dello sforzo massimale, il protocollo prevede un periodo finale di recupero della durata di sei minuti: tre minuti di recupero attivo in cui il paziente è ancora sul tappeto rotante in movimento alla velocità iniziale (2,7 Km/h) e a pendenza 0% e tre minuti di recupero passivo in posizione seduta e a riposo. Il treadmill deve avere velocità variabile, pendenza regolabile ed essere accuratamente calibrato. Il tappeto deve, inoltre, essere dotato di ringhiere frontali e/o laterali per consentire la stabilità del soggetto ed essere dotato di pulsanti di arresto immediato della marcia, ben visibili e ben raggiungibili dal paziente, da utilizzare solo in caso di emergenza.

La misurazione della pressione arteriosa sistolica e diastolica è effettuata all'inizio del test a riposo, a intervalli regolari di tre minuti durante l'esercizio e di un minuto durante il recupero, tramite uno sfigmomanometro aneroide.

Durante l'esercizio ogni soggetto è stato connesso, tramite una maschera facciale, ad un apparecchio analizzatore (COSMED QUARK PFT) dei gas espirati (O_2 e CO_2) ed un flussimetro a turbina per la misurazione dei volumi e dei flussi, per misurare i seguenti parametri: Ventilazione al Minuto (VE), Frequenza Respiratoria (FR), Volume Corrente (VT), Consumo di Ossigeno (VO_2), Produzione di Anidride Carbonica (VCO_2), Quoziente respiratorio (RQ) e Soglia Anaerobica (AT).

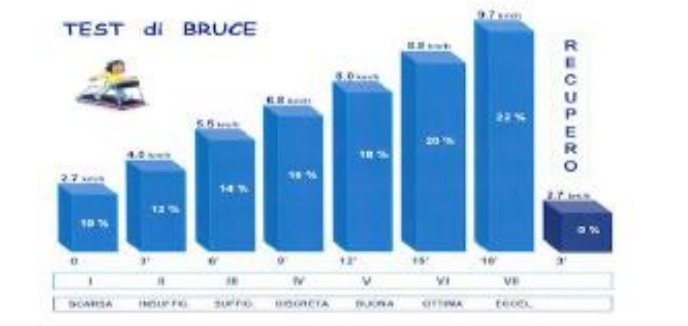


Fig. 8: Protocollo di Bruce

Tutti i pazienti sono stati sottoposti al test di Raven (matrici progressive) per la valutazione dell'intelligenza non verbale, in particolare l'abilità nel problem solving. In ogni scheda viene richiesto di completare una serie di figure con quella mancante. Ogni gruppo di item diviene sempre più difficile, richiedendo una sempre più elevata capacità di analisi, codifica, interpretazione e comprensione degli item. I risultati ottenuti vengono poi tradotti, attraverso scale di conversione, in **QI**.

4.3 Analisi statistica dei dati

L'analisi statistica dei dati ottenuti è stata effettuata usando "The Statistical Package for Social Science for Windows", versione 22.0 (SPSS, Chicago, Illinois).

I risultati sono stati presentati in termini di media \pm deviazione standard (DS). La significatività delle differenze riscontrate nei due gruppi di soggetti è stata valutata usando il Test di Student (t-Test). L'analisi della varianza (ANOVA) è il metodo statistico utilizzato per confrontare le differenze tra due o più gruppi. Valori di $p \leq 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

4.4 Risultati

I dati anagrafici e antropometrici del gruppo di studio (del22q11) e del gruppo controllo (C) sono descritti nella **Tab.3**. Da questa si evince che i pazienti con del22q11 hanno peso (Kg) e BMI (%) maggiori rispetto al C; dati statisticamente significativi con un $p < 0,009$ e $p < 0,0003$ rispettivamente. I due gruppi risultano invece omogenei per età e altezza (cm).

| | DEL22q11 (20) | GRUPPO CONTROLLO (22) | P |
|------------------------------|----------------------|------------------------------|----------|
| Età | 27,44 ± 9,43 | 26,2 ± 7,3 | NS |
| Altezza(cm) | 166,25 ± 9,97 | 169 ± 5,3 | NS |
| Peso(kg) | 77,24 ± 23,96 | 61,6 ± 10,59 | < 0,009 |
| BMI(kg/m²) | 27,88 ± 6,87 | 21,59 ± 2,83 | < 0,0003 |

Tab.3: Dati antropometrici dei soggetti esaminati

I parametri spirometrici dei pazienti del22q11, espressi come percentuale del predetto, sono risultati notevolmente inferiori rispetto alla norma, con una differenza statisticamente significativa rispetto al gruppo di controllo, in particolare dei valori medi di FEV1, FVC, PEF, MEF50, FEV1/FVC. Dei 20 pazienti con del22q11, non sono riusciti ad effettuare una prova accettabile a causa della scarsa compliance (**Tab.4, Fig. 9**). Si è studiato, poi, l'andamento del FEV1 nei pazienti del22q11 scoliotici e non (**Fig.10**).

| | DEL22q11 (20) | GRUPPO DI CONTROLLO (22) | P |
|-----------------------------|----------------------|---------------------------------|----------|
| FEV₁ | 75,88 ± 14,08 | 101,82 ± 5,56 | < 0,0001 |
| FVC | 78,44 ± 17,9 | 102,6 ± 7,13 | < 0,0001 |
| FEV₁/ FVC | 84,95 ± 10,8 | 86,27 ± 4,13 | N.S. |
| PEF | 65,61 ± 23,77 | 105,4 ± 7,31 | < 0,0001 |
| MEF₅₀ | 65,44 ± 18,53 | 101,3 ± 9,9 | < 0,0001 |

Tab.4: Parametri spirometrici dei due gruppi

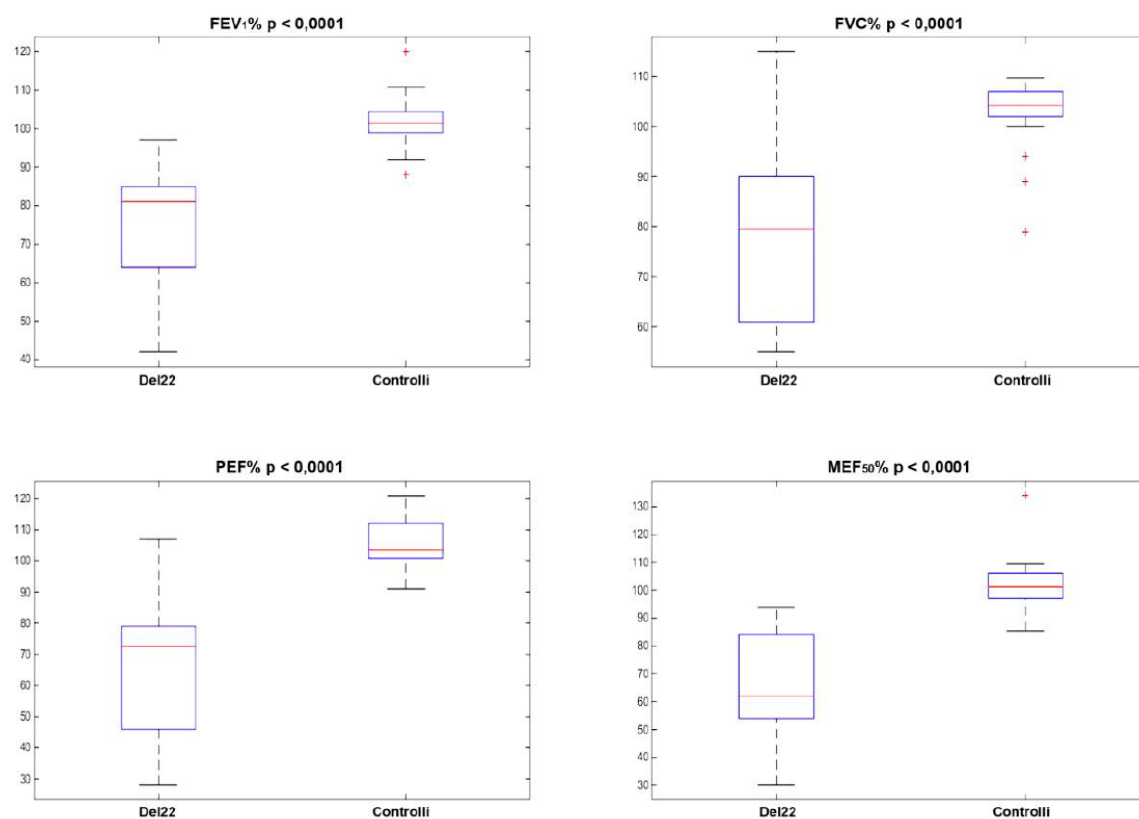


Fig. 9 : Confronto visivo tramite boxplot dei dati spirometrici

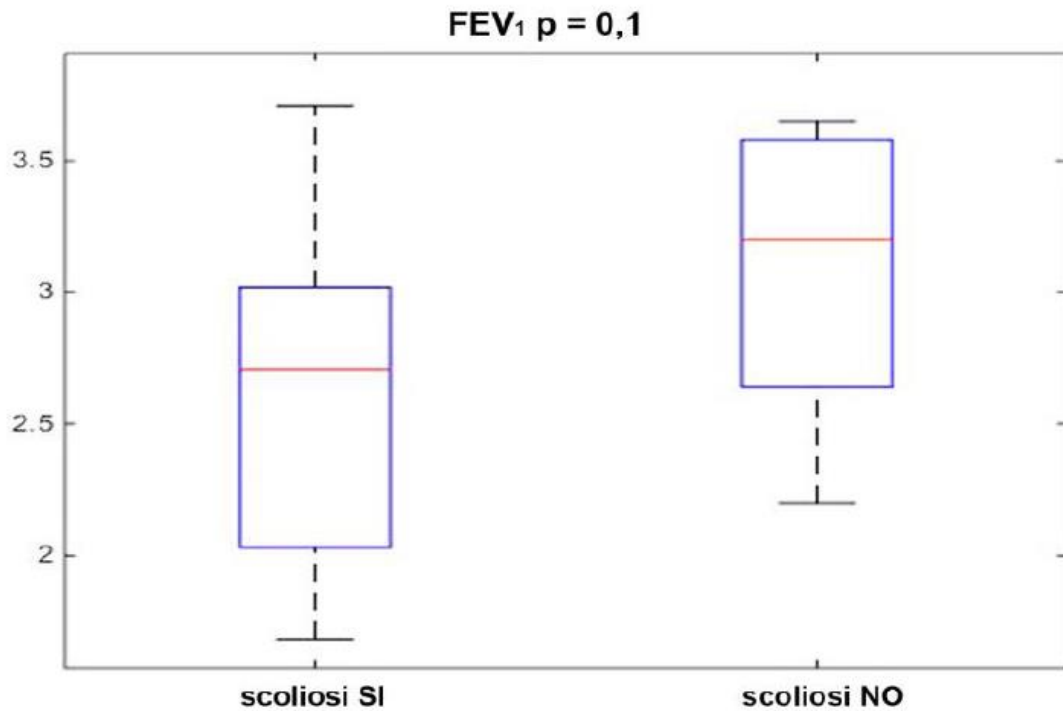
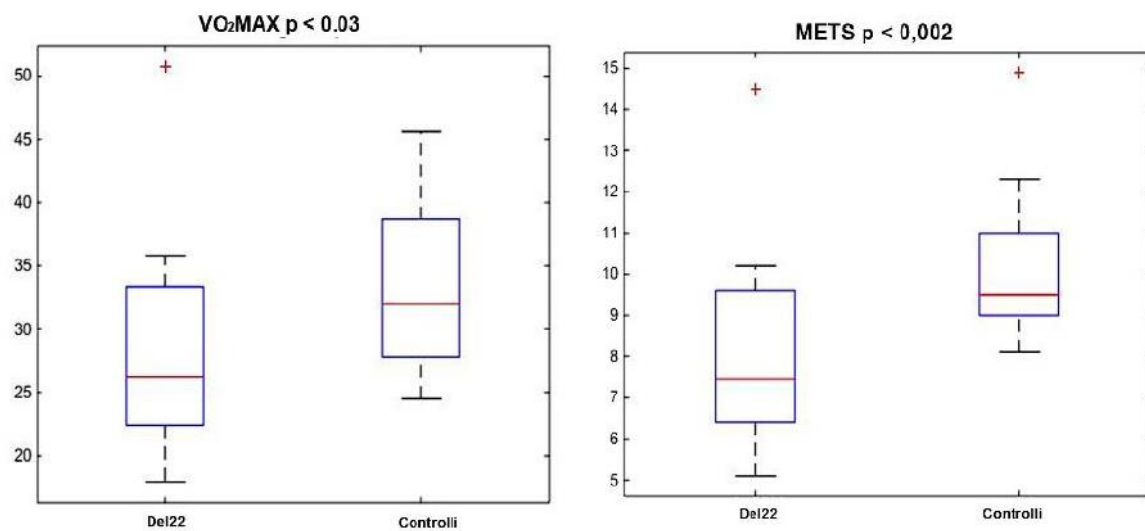


Fig.10: Valore del FEV₁ in pazienti con e senza scoliosi

Per quanto riguarda lo studio metabolico e cardiorespiratorio dei due gruppi, vi sono delle differenze statisticamente significative soprattutto del VO₂Max/Kg ($p < 0,03$), del Quoziente Respiratorio (QR) ($p < 0,0001$) e dei METS ($p < 0,002$) che risultano maggiori nel gruppo di controllo. Valori più bassi ma non significativi tra il gruppo del22q11 e il gruppo C, si sono evidenziati per la VE e per VE/VCO₂. I due gruppi mostrano, invece, valori confrontabili per il VT (**Tab. 5**).

| | Del22q11(18) | GRUPPO DI CONTROLLO (22) | P |
|--------------------------------------|---------------|--------------------------|----------|
| VO₂max(ml/min/Kg) | 27,83 ± 7,93 | 32,96 ± 6,56 | < 0,03 |
| FR (atti/min) | 34,21 ± 11,43 | 48 ± 10,34 | < 0,003 |
| VT (l) | 1,42 ± 0,65 | 1,41 ± 0,52 | N.S. |
| VE (l/min) | 50,8 ± 32,25 | 63,04 ± 17,06 | N.S. |
| RQ | 0,95 ± 0,08 | 1,10 ± 0,06 | < 0,0001 |
| VE/VCO₂ | 32,27 ± 5,41 | 29,6 ± 3,54 | N.S. |
| METS | 7,95 ± 2,27 | 10,1 ± 1,64 | < 0,002 |

Tab. 5: Parametri metabolici e cardiopolmonari dei due gruppi



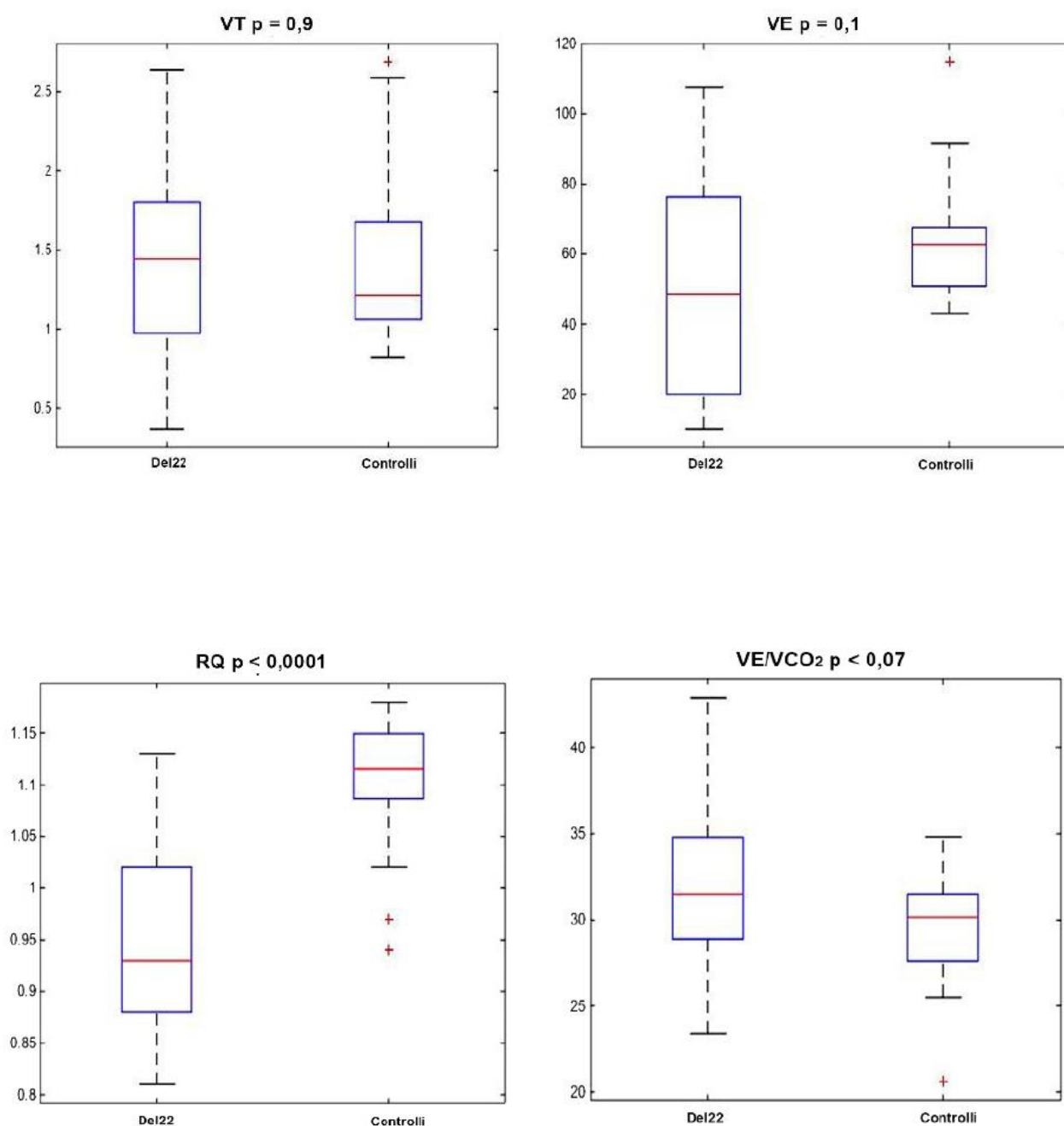


Fig. 11: Confronto visivo mediante boxplot dei parametri metabolici

All'ECG di base nessun paziente ha presentato delle alterazioni del ritmo, mentre durante la registrazione del Test da Sforzo in una paziente è stato registrato un allungamento del tratto QT. La **Tab. 6** descrive i parametri emodinamici dei due gruppi a confronto: emerge una differenza molto significativa della Pressione

Arteriosa Diastolica (PAD) e della FC al massimo dello sforzo fisico che risultano molto più basse nei pazienti del22q11 ($p < 0,0001$). Si osserva, inoltre, una riduzione degli HRR ($p < 0,02$) rispetto al gruppo C. I gruppi sono invece omogeni per la Pressione Arteriosa Sistolica (PAS) all'acme dello sforzo e per il tempo della prova (ET).

| | DEL22q11 (20) | GRUPPO DI CONTROLLO (22) | P |
|------------------------|----------------------|---------------------------------|----------|
| PAS peak(mmHg) | 149 ± 18,25 | 155,68 ± 14,41 | NS |
| PAD peak(mmHg) | 84,05 ± 11,29 | 67,27 ± 11,31 | < 0,0001 |
| FC peak (b/min) | 171,1 ± 10,21 | 184 ± 7,36 | < 0,0001 |
| HRR | 19,68 ± 9,13 | 26,44 ± 6,97 | < 0,02 |
| ET (min) | 9,79 ± 2,44 | 10,2 ± 4,76 | NS |

Tab. 6: Parametri emodinamici dei due gruppi a confronto

Infine, la VO2Max è stata messa in funzione con il BMI (**Fig.12**) e, successivamente, con l'età alla diagnosi (**Fig.14**). Nonostante graficamente possiamo commentare che al crescere del BMI e dell'età alla diagnosi vi sia una riduzione del VO2Max, il dato non è risultato statisticamente significativo. Allo stesso modo possiamo commentare il rapporto lineare tra il QI e l'ET che risultano direttamente proporzionali nonostante una scarsa rilevanza statistica (**Fig.13**).

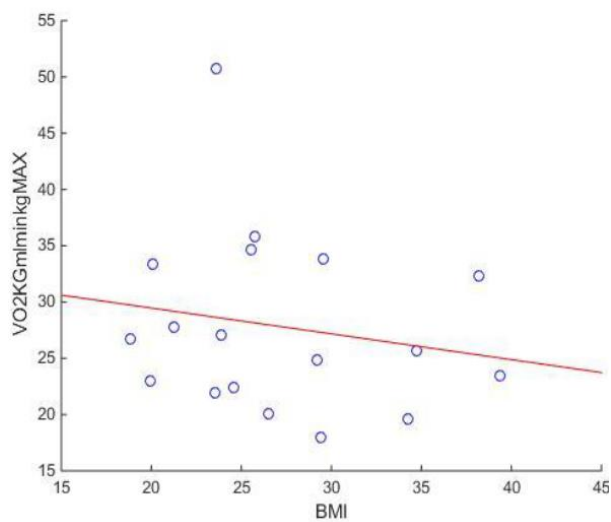


Fig.12: Realazione tra VO₂Max e BMI

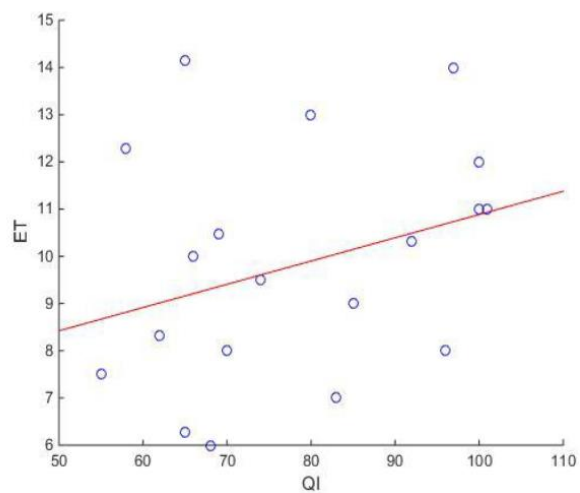


Fig.13: Relazione tra ET e QI

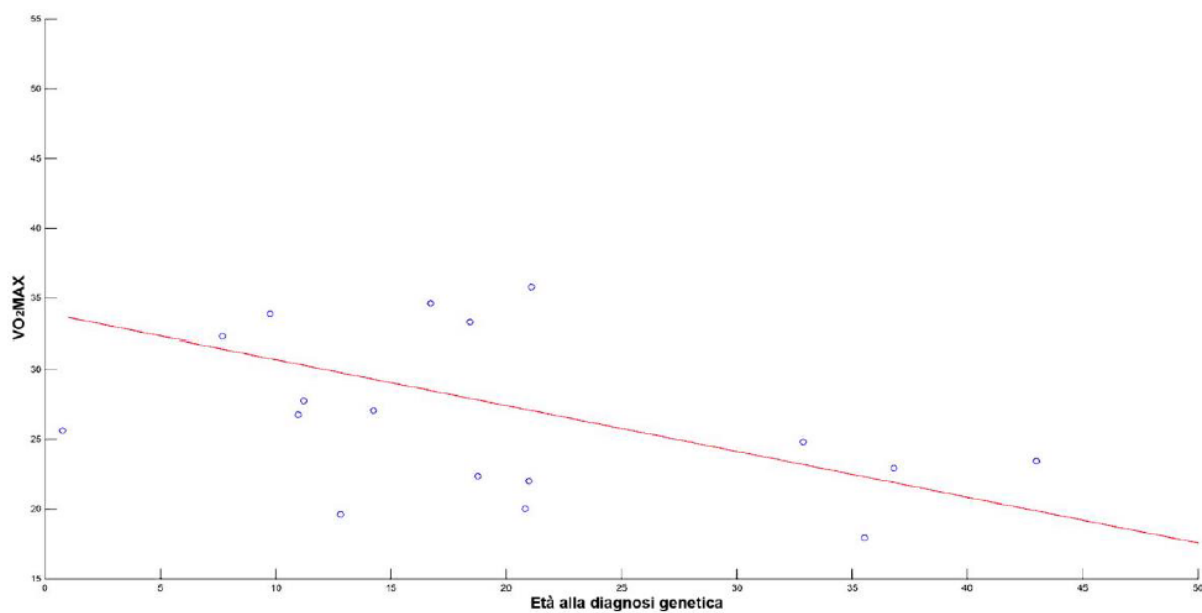


Fig.14: Relazione tra VO₂Max ed età alla diagnosi genetica

4.5 Discussione

Allo stato attuale, non vi sono studi che valutino la risposta all'esercizio fisico e il pattern respiratorio di adolescenti ed adulti con la del22q11. Il presente studio,

quindi, ha permesso di delinearne le caratteristiche principali su questo argomento, confrontando i pazienti sindromici con un gruppo di controlli sani.

Un risultato interessante è emerso dalle prove di funzionalità respiratoria, che hanno evidenziati dati significativamente inferiori nei del22q11 rispetto ai controlli. In particolare osserviamo: una riduzione marcata e proporzionale del FEV1 e della FVC con un rapporto (Indice di Tiffaneau) che si mantiene nel range di normalità, questo quadro è fortemente suggestivo di una **sindrome restrittiva**. Possibili cause del pattern restrittivo in queste pazienti sono da ricercare nelle frequenti anomalie della postura che li caratterizzano (Digilio MC et al, 2003) e nelle patologie muscoloscheletriche come la cifoscoliosi (presente in 12 pazienti del22q11). A tal proposito, nel grafico **Fig.10** si evince che i valori più bassi del FEV1% si riscontrano nei pazienti scoliotici rispetto al gruppo del22q11 non scoliotici. Inoltre, uno dei pazienti studiati ha subito un intervento di lobectomia superiore sinistra; ciò incide fortemente sulla capacità polmonare.

La riduzione fortemente significativa sia del PEF che del MEF50 delinea un'importante compromissione sia della pervietà delle grandi vie aeree sia delle piccole, rispettivamente. È probabile che a ciò contribuiscono le frequenti anomalie delle vie aeree che si riscontrano in circa il 70% dei pazienti del22q11, come per esempio la trachemalacia, broncomalacia, stenosi subglottica (Sacca R et al, 2017).

Per quanto riguarda i parametri metabolici, il VO2 Max è un indicatore della capacità del sistema cardiopolmonare di rispondere all'incremento delle richieste metaboliche e, inoltre, esprime la tolleranza all'esercizio fisico. Durante lo sforzo, un individuo con un basso valore di VO2 max andrà incontro più rapidamente ad un esaurimento muscolare e sarà incapace di svolgere un'attività fisica massimale. La differenza significativa del VO2Max nei pazienti con del22q11 potrebbe essere dovuta ad una molteplicità di fattori. Sicuramente influisce la scarsa attività fisica che questi soggetti praticano nella vita di tutti i giorni e la tendenza alla sedentarietà. Abbiamo visto che mettendo in relazione l'età alla diagnosi genetica e il VO2Max, i due

parametri sono inversamente proporzionali nonostante non vi sia un p value significativo.

Inoltre, si è studiato l'andamento del VO₂Max in funzione del BMI della popolazione del22q11, osservando come il peso eccessivo di questi pazienti e la conclamata obesità in 4 individui siano associati ad una riduzione della performance.

A conferma di questa considerazione, i pazienti del22q11 presentano il valore METS ridotto rispetto al gruppo di controllo; esso costituisce una stima del consumo di ossigeno del paziente espressa in multipli del metabolismo basale. Il valore dei METS associati ad un dato esercizio viene ricavato dal carico di lavoro che il soggetto riesce a intraprendere; al treadmill si ricava dalla velocità e dalla pendenza del nastro. Ad ogni stadio di un qualsiasi protocollo corrisponde quindi un dato valore di METS che può essere utilizzato come stima del consumo di ossigeno (VO₂) del paziente che ha completato lo stadio in questione (Slavich G et al, 2008).

Per quanto riguarda la tolleranza allo sforzo fisico, valutata in termini di ET, non vi sono differenze significative tra i due gruppi. Una valutazione più approfondita dell'ET, però, ha evidenziato come al crescere del QI dei pazienti cresca il tempo d'esercizio; questo è un fattore da considerare nei pazienti con del22q11 esaminati, dei quali 11 presentano un ritardo cognitivo lieve-borderline.

La risposta ventilatoria (VE) durante lo sforzo, fisiologicamente, è associata sia all'incremento del Volume di Tidal (TV) che della FR. Generalmente l'incremento avviene prima a carico del VT e poi in un secondo momento, quando l'esercizio è al 70-80% del picco massimo predetto, avviene l'incremento della FR. Il VT arriva in genere ad un plateau che rappresenta il 50-60% del valore della Capacità Vitale e aumenta di 3-5 volte nei giovani. I dati ottenuti dal nostro studio dimostrano che, a fronte di un VT confrontabile tra i due gruppi, la VE e la FR risultano minori nel gruppo dei pazienti del22q11.

I soggetti con del22q11 presentano, inoltre, una risposta ventilatoria alterata, che suggerisce la presenza di un mismatch ventilazione-perfusione (equivalente

ventilatorio per il consumo di anidride carbonica- $VE/VCO_2 > 32$) (Belardinelli R, 2005).

La capacità di recupero, espressa in termini di Heart Rate Recovery (HRR), è ridotta nel gruppo del22q11 rispetto ai controlli; essendo un indice importante riguardante lo stato fisico del paziente e il grado di allenamento risulta evidente che i pazienti con del22q11, in sovrappeso e tendenzialmente sedentari, siano svantaggiati.

Analizzando i parametri emodinamici, i pazienti con del22q11 presentano una FCpeak all'acme dello sforzo fortemente ridotta ($p < 0,0001$). Un'alterata risposta della FC allo sforzo può essere indicativa di un'incompetenza cronotropa, anche se i nostri pazienti non scendono al di sotto del cut-off del 85% della FCmax teorica, per cui non presentano un maggior rischio di morte improvvisa rispetto alla popolazione sana (Elhendy A et al, 2003).

Infine, una differenza significativa si è riscontrata nei valori della PADpeak, elevata nei pazienti con del22q11 rispetto ai controlli; ciò nonostante rispetto alla PAD a riposo il valore rimane costante o solo lievemente aumentato e, quindi, fisiologico.

Il peso e il BMI sono significativamente aumentati nella del22q11 rispetto alla popolazione sana e ciò correla con la tendenza all'obesità che caratterizza questi ragazzi (Voll SL et al, 2017). Sicuramente, la terapia con antipsicotici cui sono sottoposti quasi la totalità dei pazienti del22q11, assume un ruolo di primo piano in tal senso, contribuendo in maniera considerevole all'aumento di peso e all'incidenza di steatosi epatica che, di per sé, è comunque una caratteristica della sindrome (Bak M et al, 2014). Studi più approfonditi saranno necessari per analizzare meglio questo fenomeno e la stretta associazione con la sindrome metabolica che abbiamo evidenziato in una percentuale importante dei nostri pazienti, nonostante il limite della ridotta numerosità campionaria dello studio.

4.6 Conclusioni

Nel presente studio, nessun paziente ha evidenziato l'insorgenza di una sintomatologia correlata allo sforzo, come sincope e dolore toracico, o aritmie, confermando una risposta cardiovascolare soddisfacente all'esercizio fisico. I bassi valori di VO2Max sono il risultato di una scarsa attività fisica ed uno stile di vita sedentario, evidenziato nel 90% dei pazienti del22q11 arruolati. È stato dimostrato, a tal proposito, che la funzionalità cardiorespiratoria può essere migliorata grazie ad un regolare esercizio fisico, sia negli adulti che nei bambini e che questo contribuisce a migliorare il benessere fisico e mentale, riducendo ansia, stress e depressione e, quindi, la qualità della vita.

Come dimostrato dallo studio di Moore et al pubblicato nel 2012 svolgere un'attività fisica costante e regolare, oltre a creare un'occasione di socializzazione e condivisione con gli altri, riduce la mortalità e aumenta l'aspettativa di vita; pertanto è importante che anche i soggetti affetti da sindromi genetiche pratichino uno sport adatto alle proprie condizioni cliniche.

D'altra parte, l'esercizio fisico è in grado di controllare i fattori di rischio cardiovascolare riducendo la pressione arteriosa, lo stress ossidativo, l'infiammazione; previene l'ipercolesterolemia, migliora la tolleranza al glucosio e riduce l'incidenza di obesità e diabete mellito di tipo 2. Ciò è importante nei pazienti con del22q11 considerando che Bassett et al nel 2009 ha evidenziato un aumento delle morti improvvise in soggetti adulti, probabilmente associate ad un'elevata incidenza di sindrome metabolica e incidenti cardiovascolari.

Inoltre, secondo l'OMS, l'esercizio fisico previene e riduce l'osteoporosi e il rischio di fratture, ma anche i disturbi muscolo-scheletrici e posturali. Questi ultimi sono frequenti nella sindrome del22q11 e associati ad una diminuzione dei parametri spirometrici dei pazienti.

Al fine di migliorare la performance respiratoria, si consiglia, quindi, in tutti questi soggetti una consulenza ortopedica, con il fine di correggere la scoliosi e i disturbi della postura; il trattamento sembrerebbe, infatti, essere associato non solo ad un

miglioramento del pattern respiratorio ma anche ad un miglioramento del tono dell'umore (Wilkes C et al, 2017).

La valutazione della funzionalità cardiorespiratoria risulta, quindi, necessaria nei pazienti con del22q11 per riconoscere prontamente eventuali deficit ed escludere possibili controindicazioni all'attività sportiva. L'obiettivo è quello di consigliare un'attività fisica moderata quotidiana al fine di migliorare la salute fisica, psichica e la qualità della vita di questi soggetti. È inoltre indicato un follow up cardiologico e pneumologico, per monitorare la compliance cardiorespiratoria e la tolleranza all'esercizio fisico nel tempo.

5. Lo studio clinico II

5.1. Background e scopo dello studio

La delezione 22q11.2 è una sindrome genetica causata da una microdelezione del braccio lungo del cromosoma 22, caratterizzata da un'alta variabilità fenotipica e in circa l'80% dei casi si accompagna ad una cardiopatia congenita.

Appena scoperta, la sindrome è stata classificata nel gruppo delle patologie da deficit del sistema immunitario ed ancora oggi, erroneamente, viene presentata così in molti libri di testo. Nei soggetti affetti da questa sindrome, la prima causa di morte pre e neonatale, è rappresentata dalle complicanze cardiologiche per le cardiopatie maggiori che caratterizzano questi pazienti. La conoscenza anatomica, il miglioramento delle tecniche chirurgiche, associato ad una diagnosi precoce della sindrome anche in epoca prenatale, e i grandi passi in avanti della terapia intensiva neonatale hanno comportato una riduzione del tasso di mortalità infantile associato alla del22q11. Oggi assistiamo quindi ad un aumento della durata della vita media dei pazienti e quindi ci troviamo a dover affrontare questioni in merito alla gestione dei pazienti adulti con del22q11 e al miglioramento della loro qualità della vita.

Il paziente con la del22q11 è un paziente complesso da gestire, soprattutto per le

numerosi condizioni mediche associate, anche di tipo neuropsichiatrico. Si tratta, spesso di pazienti obesi, con ritardo mentale, psicosi, dismorfie facciali e problemi nel linguaggio e nella comunicazione. Tutti questi fattori favoriscono l'isolamento sociale e uno stile di vita sedentario.

Negli ultimi 20 anni, sono stati condotti numerosi studi che hanno permesso di valutare la funzione cardiorespiratoria in pazienti con cardiopatia congenita non sindromici (Rhodes JMD et al, 2010). Sono scarsi invece, in letteratura, i dati relativi alla funzione cardiopolmonare dei pazienti con sindromi genetiche con o senza cardiopatia congenita. Nello studio di Russo et al del 1998 (per la valutazione della funzione ventricolare) e nel lavoro di Pastore et al del 2000 (per la funzione cardiorespiratoria) sono stati esaminati i pazienti con la Sindrome di Down non cardiopatici con lo scopo di valutare la funzione cardiopolmonare e promuovere una regolare attività fisica. Nel 2013 Tancredi et al ha inoltre studiato la risposta all'esercizio fisico nei pazienti con la Sindrome di Turner.

Dati gli ottimi risultati ottenuti con la cardiochirurgia nei ragazzi con del22q11 cardiopatici e considerando quindi anche l'allungamento della vita media di questi pazienti, è opportuno iniziare a chiedersi quale sarà il loro futuro e come sarà la loro qualità della vita. Per rispondere a queste domande, come già fatto per la sindrome di Down e per la Sindrome di Turner il nostro gruppo ha avviato uno studio casocontrollo in cui è stata valutata la funzionalità cardiaca tramite ecocardiografia color doppler transtoracica, in soggetti adolescenti e in età adulta affetti dalla sindrome da del22q11 non cardiopatici (i casi con cardiopatia sono stati esclusi per il possibile effetto confondente sulla funzione cardiaca), confrontandoli con un gruppo di controllo. Non va però dimenticato che questi pazienti senza cardiopatia congenita presentano comunque un danno di tipo genetico e tissutale causato dalla delezione a livello cardiaco, associato spesso ad anomalie extracardiache come la pulmonary crossed arteries, bulbo aortico dilatato o un ispessimento ventricolare ai limiti alti della norma.

5.2. Materiali e metodi

5.2.1. Principi di ecografia

L'Ecografia è una metodica diagnostica tomografica di tipo digitale, che fornisce immagini di sezioni corporee mediante l'impiego di ULTRASUONI (US), ovvero di onde meccaniche di frequenza > 20 KHz, valore che si pone oltre il limite di udibilità. In particolare, gli US che vengono utilizzati a scopo diagnostico presentano frequenze che variano da 2 a 20 MHz.

Per la produzione e la ricezione degli ultrasuoni vengono impiegati "materiali piezoelettrici", che hanno la capacità di trasformare l'energia elettrica in energia Meccanica (onde ultrasonore) e viceversa. Nelle apparecchiature ecografiche la sonda (o trasduttore) è composta da cristalli ceramici sintetici, che producono le onde US sfruttando l'effetto piezoelettrico dei cristalli; il dispositivo alternativamente invia e riceve gli ultrasuoni. Tensione elettrica \rightarrow cristalli ceramici sintetici \rightarrow vibrazione \rightarrow produzione di ultrasuoni

Le sonde principali sono 3: lineare, convessa e settoriale:

- la sonda lineare presenta un ridotto campo visivo con buona risoluzione anche sui piani superficiali, ma presenta scarsa maneggevolezza e risoluzione dell'immagine inferiore in profondità;
- la sonda convessa ha un buon campo di vista con buona risoluzione su piani superficiali, medi e medio-profondi, ma con perdita di informazione nei piani più profondi;
- la sonda settoriale è molto maneggevole e ha ottima risoluzione in profondità, ma con perdita di informazioni in superficie e campo visivo ridotto.

La tecnica si basa sull'emissione di brevi impulsi ultrasonori che attraversano i tessuti e vengono in parte assorbiti ed in parte riflessi (echi di ritorno).

L'assorbimento è causato dalla vibrazione delle molecole con produzione di calore, ed è responsabile dell'attenuazione del fascio ultrasonoro, che aumenta proporzionalmente all'aumentare dello spessore corporeo attraversato, e soprattutto con la frequenza dell'onda impiegata e con l'impedenza acustica del mezzo.

Si usano basse frequenze (3,5-5 MHz), con maggiore capacità di penetrazione, per lo studio delle strutture profonde (organi parenchimatosi addominali), mentre vengono impiegate alte frequenze (7-20 MHz) per lo studio ecografico dei tessuti superficiali.

Altri parametri fisici da considerare sono: - la lunghezza d'onda, inversamente proporzionale alla frequenza, che varia da 0.007 a 1.5 mm;

- la velocità di propagazione, prodotto tra frequenza e lunghezza d'onda, si pone in relazione alla densità del mezzo attraversato. La riflessione degli US è dovuta all'incontro di strutture a diversa impedenza acustica, aree di passaggio tra zone in cui l'onda acustica si propaga a differente velocità. Le onde acustiche riflesse vengono rilevate dal trasduttore che provvede a trasformarle in segnali elettrici, poi amplificati dal TGC e convertiti in segnali digitali dallo scan converter. Il software dell'apparecchiatura memorizza l'intensità dei vari echi ricevuti e calcola la profondità, rispetto al trasduttore, delle diverse strutture corporee riflettenti sulla base del tempo intercorso tra l'emissione dell'impulso e la ricezione dell'eco. I dati digitali così elaborati vengono trasformati da un convertitore in segnali elettrici e rappresentati su monitor. Esistono tre principali sistemi di visualizzazione del segnale ecografico:

- A-mode (Amplitude mode): l'eco di ritorno è rappresentato come un picco di altezza

proporzionale all'intensità ed in relazione alla profondità rispetto alla superficie del trasduttore.

- TM-mode (Time Motion mode): l'eco di ritorno è rappresentato come un punto luminoso soggetto ad uno spostamento orizzontale in funzione del tempo ed è quindi la rappresentazione grafica dei movimenti di strutture anatomiche esposte al fascio di US in funzione del tempo (basti pensare alla dinamica delle valvole cardiache).

- B-mode (Brightness mode): visualizzazione di ogni eco come un punto di luminosità

proporzionale alla sua intensità (secondo una scala di grigi); le strutture anatomiche che generano echi più intensi appariranno per convenzione bianche, mentre quelle che non generano segnale saranno nere. Il fascio ultrasonoro penetra attraverso una finestra

acustica; la sonda dovrà pertanto essere orientata in base al piano che si vuole esplorare.

Per l'ecocardiografia B-mode esistono dei piani standard di scansione, ma va ricordato

che la sonda consente di esplorare una numerosa serie di piani contigui quando necessario, per ottenere un miglior riconoscimento delle strutture in esame. Consideriamo 4 finestre principali:

a) Finestra parasternale

Paziente in decubito laterale. La sonda viene posizionata in corrispondenza del 4° spazio intercostale a sinistra dello sterno. Offre due tipi di scansioni:

- Parasternale asse lungo: realizzata orientando la sonda in direzione verticale rispetto al cuore. Consente di ottenere informazioni relative all'atrio e al ventricolo di sinistra, alla valvola mitrale e all'efflusso aortico;

- Parasternale asse corto: realizzata ruotando la sonda di 90° in senso orario, diretta perpendicolarmente alla parete toracica, e consente di sezionare trasversalmente il cuore a vari livelli: in alto si potranno evidenziare gli atri e l'aorta, più in basso i lembi

della valvola mitrale, il setto interventricolare e le cavità del ventricolo sinistro, ancora

più in basso l'apice del ventricolo sinistro al cui interno sporgono i muscoli papillari.

b) Finestra apicale

Paziente in decubito laterale. Coincide con lo spazio intercostale immediatamente sovrastante l'itto della punta e consente una contemporanea identificazione delle

camere cardiache ed una visione nitida dei movimenti delle pareti laterali dei ventricoli,

del setto interventricolare e delle valvole atrio-ventricolari grazie alle seguenti proiezioni:

Ø Proiezione apicale quattro camere: ottenuta dirigendo il fascio ultrasonoro verso la base del cuore. Consente di evidenziare atrio e ventricolo sinistro - separati dalla valvola mitrale -, atrio e ventricolo destro – separati dalla valvola tricuspide-, il setto interventricolare e, meno bene, il setto interatriale.

Ø Proiezione apicale cinque camere: si ottiene inclinando la sonda in avanti o rispettivamente verso sinistra. Consente di evidenziare, in aggiunta alle quattro camere cardiache, la sezione dell'Aorta che appare al di sopra del tratto di efflusso del ventricolo sinistro dal quale è separata mediante la valvola aortica.

c) Finestra sottocostale

Paziente in decubito supino. La sonda è rivolta verso la spalla sinistra del paziente.

Consente di evidenziare le quattro camere cardiache, il setto interatriale ed interventricolare. Ruotando la sonda di 90° in senso orario è possibile apprezzare anche

le valvole polmonari e l'arteria polmonare.

d) Finestra soprasternale

Paziente in posizione supina. La sonda, posizionata in corrispondenza dell'incisione soprasternale, viene orientata verso il basso; consente di visualizzare l'arco aortico, l'aorta ascendente e discendente e l'arteria polmonare.

5.2.2. Ecografia Doppler

Consiste in un'indagine ultrasonografica che si basa sull'effetto Doppler. Si tratta di un

fenomeno fisico che si verifica quando un'onda incontra un oggetto in movimento:

l'onda viene riflessa ad una frequenza diversa da quella incidente.

L'effetto Doppler è descritto dalla seguente equazione:

$$\Delta F = 2 \times f \times V \times \cos \theta$$

L'entità della variazione di frequenza (ΔF) è direttamente proporzionale alla velocità (V) del movimento dell'oggetto e dipende dal coseno dell'angolo tra l'onda incidente e la direzione dell'oggetto in movimento.

Nella pratica medica l'onda incidente è quella ultrasonora e l'oggetto in movimento è in genere rappresentato dal flusso ematico.

Mentre la frequenza dell'onda acustica incidente è di quella riflessa e dell'ordine dei MHz (cioè degli ultrasuoni), la loro differenza (ΔF) rientra nell'ambito dell'udibile (KHz) e può essere ascoltata dall'operatore durante l'esecuzione dell'indagine.

Lo studio doppler fornisce informazioni sulla variazione nel tempo delle frequenze e sulla direzione del flusso (in allontanamento o in avvicinamento rispetto alla sonda).

Gli apparecchi Eco-Doppler, a partire dai valori di ΔF e dell'angolo di incidenza del fascio di US, calcolano la velocità del flusso ematico.

Le tecniche di ricezione e campionamento del segnale doppler possono essere ad emissione continua o ad emissione pulsata.

§ Doppler continuo (Continue-Wave Doppler o CWD)

Il fascio ultrasonoro è emesso continuamente da un cristallo piezoelettrico, mentre il segnale di eco viene recepito da un altro cristallo adiacente. Questa contemporanea emissione e ricezione del segnale non consente di differenziare gli echi provenienti da

vasi a profondità diverse lungo il fascio ultrasonoro.

§ Doppler pulsato (Pulsed-Wave Doppler o PWD)

È la tecnica sviluppata più di recente su cui si basano le apparecchiature attualmente in

uso. In questo caso uno stesso trasduttore emette un fascio di US e subito dopo funziona da ricevitore del segnale riflesso. Questo sistema, in relazione al ritardo con cui gli echi raggiungono il trasduttore, consente di stabilire la distanza da cui provengono i segnali. Si posiziona il volume campione all'interno del vaso da

esaminare sull'immagine B-mode e si effettua un'indagine flussimetrica, ottenendo la rappresentazione grafica dello spettro, che compare in tempo reale accanto all'immagine morfologica bidimensionale.

In ambito cardiologico l'evoluzione tecnologica ha portato ad ideare ecocardiografi in

grado di abbinare la tecnica ecocardiografica a quella velocimetrica: Ecocardiografia Doppler.

In questo modo l'ecografia consente di delineare i profili anatomici delle strutture cardiache, mentre la velocimetria consente di evidenziare e misurare la velocità del sangue circolante all'interno delle camere cardiache e dei grossi vasi e di stabilire con precisione la direzione ed il tipo di flusso.

Un'ulteriore evoluzione degli apparecchi doppler ad emissione pulsata è data dai "sistemi di visualizzazione del flusso", tra cui ricordiamo il Color Doppler.

Si tratta di una metodica in grado di combinare una ecocardiografia B-mode ad un Doppler pulsato, offrendo la contemporanea visualizzazione dell'immagine anatomica

e la codificazione in colore del flusso sanguigno. Si ottiene una mappa colorimetrica che viene sovrapposta all'immagine morfologica.

Il segnale ottenuto contiene informazioni sulla presenza e direzione del flusso (quando

presente, il flusso viene rappresentato per convenzione in colore rosso se si avvicina alla sonda, in colore blu se si allontana dal trasduttore), sulla velocità media del sangue e sulle variazioni di segnale nel tempo.

Uno dei limiti principali delle tecniche Doppler è rappresentato dalla scarsa sensibilità

per i flussi molto lenti (es. microcircolazione) e la suscettibilità ad artefatti di movimento. Numerose tecniche Doppler possono essere impiegate per lo studio della funzione ventricolare: il Doppler pulsato, il Doppler continuo ed il color Doppler.

Utilizzando tali tecniche, le informazioni sulla funzione ventricolare possono essere

ottenute in due modi: indirettamente misurando la velocità del sangue che si sposta nelle cavità cardiache e attraverso le valvole (*Doppler ematico*), ma anche direttamente misurando la velocità con cui gli anelli valvolari ed il miocardio stesso si spostano durante il ciclo cardiaco (*Doppler tissutale*).

5.2.3. Tissue Doppler Imaging (TDI)

Il Tissue Doppler Imaging (TDI) si basa sugli stessi principi del Pulsed-Wave Doppler e del Color Doppler. Per distinguere tra i segnali originati dal movimento tissutale

rispetto a quelli dati dal flusso di sangue, si utilizzano dei filtri ad alta frequenza.

Le nuove tecnologie basate sul Doppler tissutale consentono di ottenere con l'uso degli

ultrasuoni nuovi parametri di funzione ventricolare, rappresentati dalle velocità e dallo

spostamento del miocardio e degli anelli atrio-ventricolari e dalla deformazione del miocardio stesso. Il Doppler tissutale permette di valutare con precisione la velocità del muscolo cardiaco nel processo di rilasciamento diastolico, ed è per questo motivo che i parametri derivanti dall'indagine TDI sono stati proposti, soprattutto, per la valutazione della funzione diastolica del ventricolo sinistro.

Le velocità derivate dal TDI sono relativamente indipendenti dalle variazioni di carico

ventricolare e hanno mostrato un vantaggio nella valutazione quantitativa della funzione ventricolare destra e sinistra.

Entrambe le valvole atrio-ventricolari sono ancorate al miocardio ventricolare mediante una struttura anulare. L'anulus valvolare si sposta lungo l'asse longitudinale,

allontanandosi dall'apice durante la diastole, e avvicinandosi allo stesso durante la sistole.

Vari autori hanno mostrato che l'entità della discesa dell'anello mitralico verso la punta

del cuore fornisce informazioni sulla funzione sistolica globale del ventricolo sinistro.

Il Doppler tissutale consente di studiare tale funzione in modo semplice e rapido, registrando direttamente la velocità di spostamento dell'anello (cm/sec) e consentendo

il calcolo automatico del suo spostamento (cm).

Il movimento dell'anulus mitralico viene valutato a livello della parete laterale e settale; quello dell'anulus tricuspidalico a livello della parete laterale. La proiezione apicale quattro camere fornisce la finestra ideale per valutare l'asse longitudinale del ventricolo.

Lo studio Doppler tissutale dell'anello mitralico viene in genere effettuato con la tecnica ad onda pulsata ponendo il volume campione sui punti cardinali dell'anello stesso nelle sezioni apicali (**Fig.6**).

Va tenuto presente che la velocità ottenuta a livello di ogni punto dell'anello è rappresentativa della funzione longitudinale dell'intera parete ventricolare cui appartiene il punto anulare campionato, e non della funzione della sola zona di muscolo sottostante la porzione di anello esaminata. Pertanto, se si effettua la media delle velocità registrate a livello dei vari punti anulari, si ha la possibilità di valutare la

funzione globale del ventricolo sinistro.

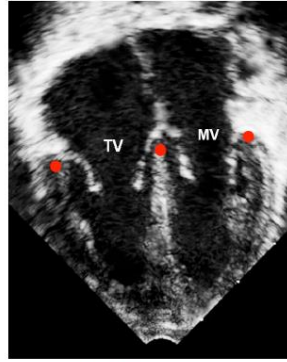


Fig. 6 - Proiezione Apicale quattro camere. Localizzazione del cursore per la valutazione con TDI. MV, valvola mitrale; TV, valvola tricuspide.

Sul tracciato compaiono *due* picchi *diastolici negativi* quando l'anulus si allontana dall'apice, ed un picco *sistolico positivo* quando l'anulus va verso l'apice. I due picchi

negativi corrispondono, rispettivamente, ad un movimento anulare diastolico precoce (onde E' - Em), che riflette il movimento delle fibre dovuto al riempimento ventricolare

rapido, ed al movimento dell'anulus durante la contrazione atriale (onda A'-Am) (124).

Il picco positivo che si genera durante la sistole (onda S'- Sm) rappresenta l'escursione sistolica dell'anulus.

La funzione anulare può essere usata anche per lo studio della diastole ventricolare. La

velocità protodiastolica di picco dell'anello mitralico (E') dipende dal rilasciamento miocardico e, misurata mediante Doppler tissutale pulsato nelle sezioni apicali, sembra

essere meno dipendente dal precarico rispetto alla velocità protodiastolica del flusso transmitralico (E). E pertanto possibile che E' possa effettivamente essere espressione del rilasciamento miocardico attivo, e che possa rappresentare un parametro in grado di valutare la disfunzione diastolica ventricolare con maggiore accuratezza rispetto al

flusso transmitralico. E stato proposto di utilizzare il rapporto E/E' per correggere la dipendenza dal precarico di E (**Fig. 7**).

Come nel caso della funzione sistolica globale, anche lo studio della funzione diastolica

globale del ventricolo sinistro richiede che E' sia campionata a livello dei vari punti anulari e che sia utilizzato il valore medio.

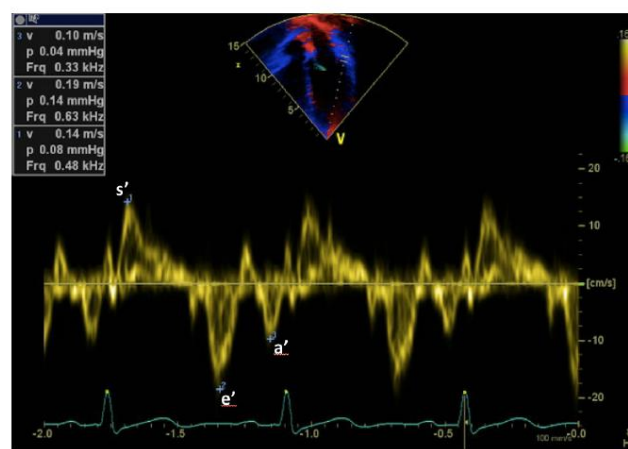


Fig. 7 - TDI della porzione laterale dell'anulus mitralico. Picco a' , velocità durante la contrazione atriale; picco e' , velocità di picco durante la diastole ventricolare precoce; picco s' , velocità di picco durante la sistole ventricolare.

5.2.4. Pazienti reclutati e parametri analizzati

Lo studio è stato condotto presso la U.O.C di Cardiologia Pediatrica (Dipartimento di Pediatria – “Sapienza” Università di Roma) in collaborazione con la “Aidel22 ONLUS” (Associazione Italiana Delezione del Cromosoma 22) dal mese di Novembre 2016 a Ottobre 2018.

Lo studio ha coinvolto 21 soggetti adolescenti e adulti affetti dalla del22q11 senza cardiopatia congenita, 16 maschi e 5 femmine, con un'età media di 22,61 (range 13-35 anni) nell'ambito dei periodici follow-up organizzati nella nostra struttura.

Criteri d'inclusione:

- Pazienti con delezione 22q11.2, con diagnosi genetica (FISH, CGH-array)

Assenza di cardiopatia o difetti cardiaci maggiori

- Buone condizioni generali

I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un gruppo di controlli, costituito da soggetti esenti da patologie croniche con un'età media di 21,35 (range 13-47) che accedevano al Servizio della UOC di Cardiologia Pediatrica della stessa clinica per visite di controllo. Un consenso informato è stato richiesto a tutti i partecipanti o ai genitori, se minorenni, di entrambi i gruppi di pazienti.

Tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti ad una visita medica preliminare, comprendente un'anamnesi accurata individuale e familiare e un esame obiettivo completo, durante il quale vengono anche rilevati i parametri antropometrici (peso, altezza e BMI) e la pressione arteriosa a riposo. L'altezza è stata misurata in piedi, utilizzando lo stadiometro standard. Il peso corporeo è stato misurato con l'abbigliamento più leggero con un'approssimazione di 0,1 Kg su una scala meccanica. Il BMI è stato calcolato e determinato dal peso in kg diviso per l'altezza in metri². È stata richiesta ad ogni paziente una copia della diagnosi genetica (FISH, CGH-array) che dimostrasse la del22q11. Sono stati esclusi coloro che presentavano un BMI troppo

elevato da non consentire una visuale della finestra ecocardiografica ottimale.

Ogni soggetto è stato sottoposto ad uno studio ecocardiografico transtoracico completo

seguendo le linee guida stabilite dall'American Society of Echocardiography sviluppate

in collaborazione con l'European Association of Echocardiography.

L'ecocardiografia è stata effettuata con Ecocardiografo Philips, modello Sonos 5500 (Philips, Andover,

Massachusetts); l'acquisizione delle immagini è avvenuta utilizzando sonde S4.

L'esame è stato eseguito con il paziente in posizione supina e in decubito laterale sinistro da uno stesso operatore e su 3 cicli cardiaci consecutivi. In questo modo si è esclusa la presenza di una cardiopatia congenita o un difetto cardiaco maggiore nei

pazienti arruolabili; anomalie cardiache e/o extracardiache minori e di scarsa rilevanza

clinica sono state considerate accettabili (la crossed pulmonary arteries, bulbo aortico lievemente dilatato, arco aortico destoposto, setto interventricolare ai limiti alti della norma).

Si è proceduto con l'esame ecocardiografico standard: le immagini bidimensionali in scala di grigi per lo studio del ventricolo sinistro sono state ottenute mediante finestre ecocardiografiche standard: apicale quattro camere e parasternale asse corto. Per lo studio del ventricolo destro sono state analizzate immagini bidimensionali ottenute mediante una finestra apicale quattro camere.

La valvola mitrale, grazie alla sua intensa ecoriflettenza, è una delle strutture più facilmente identificabili con ecocardiografia B-mode; le proiezioni più utili per lo studio di tale struttura sono la parasternale asse lungo (che consente di evidenziare i due lembi valvolari) e la parasternale asse corto (che permette di valutare il diametro dell'ostio valvolare). Le stesse proiezioni consentono di visualizzare la valvola aortica e le sue cuspidi, nonché la porzione iniziale dell'aorta ascendente, mentre l'arco aortico viene studiato in proiezione soprasternale. In proiezione parasternale asse lungo (**Fig. 8**) si effettua la misurazione delle dimensioni di:

- Anulus aortico
- Bulbo aortico
- Giunzione sinotubulare
- Aorta ascendente

Tali misurazioni sono fondamentali per studiare in modo adeguato la radice dell'Aorta.

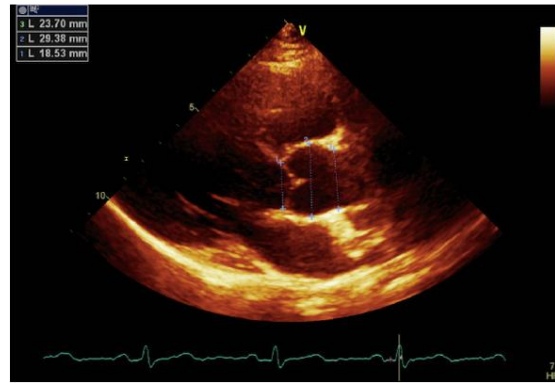


Fig. 8 - Proiezione Parasternale asse lungo. Diametri di: Anulus dell'Aorta (1), Bulbo dell'Aorta(2), Giunzione sinotubulare (3).

Si è proceduto quindi alla valutazione del rapporto Atrio sinistro/ Aorta (AS/Ao). Recenti linee guida raccomandano di misurare i diametri dell'anulus aortico in proiezione parasternale asse lungo tra la fase precoce e quella media della sistole. Nel nostro studio abbiamo preso in considerazione anche i parametri convenzionali Mmode relativi alle dimensioni del ventricolo sinistro (diametro telediastolico e telesistolico, LVIDd e LVIDs), agli spessori telediastolici del setto interventricolare e della parete posteriore del ventricolo sinistro (IVSd e PPd rispettivamente), misurati dalla finestra parasternale asse lungo. Fondamentale è inoltre la valutazione della frazione di eiezione (EF), ossia il volume di sangue espulso dal ventricolo sinistro come percentuale del volume telediastolico. Tale calcolo presuppone la stima del volume telesistolico (ESV) e telediastolico (EDV) del ventricolo sinistro.

$$EF = \frac{(EDV - ESV)}{EDV} \times 100$$

I volumi del ventricolo sinistro possono essere calcolati sia usando l'ecografia M-mode (che utilizza il metodo derivato dall'equazione di Teicholtz), che quella Bidimensionale (basata sul metodo di Simpson biplano, che è meno dipendente dalle assunzioni geometriche). Nel nostro studio il metodo di scelta per il calcolo di tali parametri è quello derivato dall'equazione di Teicholtz, che si serve di dati ottenuti

dall'Ecografia M-mode. A partire dalla sola misura del diametro telediastolico e telesistolico in sezione parasternale asse lungo e possibile ricavare i rispettivi volumi e quindi la frazione di eiezione.

Altro parametro preso in considerazione e stata la Frazione di accorciamento (FS), che

consiste nella variazione percentuale delle dimensioni dell'asse minore del ventricolo sinistro in sistole, rispetto alla sua dimensione in diastole. E un indice della funzione sistolica del ventricolo sinistro. E stata ottenuta con metodica M-mode secondo la formula:

$$FS = \frac{(DTDVS - DTSVS)}{DTDVS} \times 100$$

§ Eco- Doppler

I parametri di afflusso ventricolare sinistro, ossia l'onda della velocita di picco di riempimento diastolico precoce (onda E) e l'onda della velocita di picco diastolico tardivo (onda A), sono stati misurati dalla finestra apicale 4 camere, posizionando il volume campione a livello dell'estremita dei lembi mitralici, distalmente all'anulus. Le onde evidenziate rappresentano le due fasi del riempimento diastolico: protodiastolica (onda E) dovuta al rilasciamento ventricolare rapido, e telesistolica (onda A) che esprime il riempimento diastolico conseguente alla contrazione atriale, separate da una fase mesodiastolica di scarso flusso.

Sono stati quindi calcolati i rapporti delle due velocita (E/A).

Altro parametro utile per valutare la funzione diastolica del ventricolo sinistro e rappresentato dal Tempo di decelerazione (DT) della velocita di flusso protodiastolico.

Il DT e stato calcolato dalla curva di flusso transmitralico, misurando il tempo che intercorre tra il picco di velocita dell'onda E ed il suo ritorno a livello della linea di base durante la fase intermedia della diastole. Tale parametro risulta sensibile al

rilassamento ventricolare e alla sua compliance (**Fig. 9**).

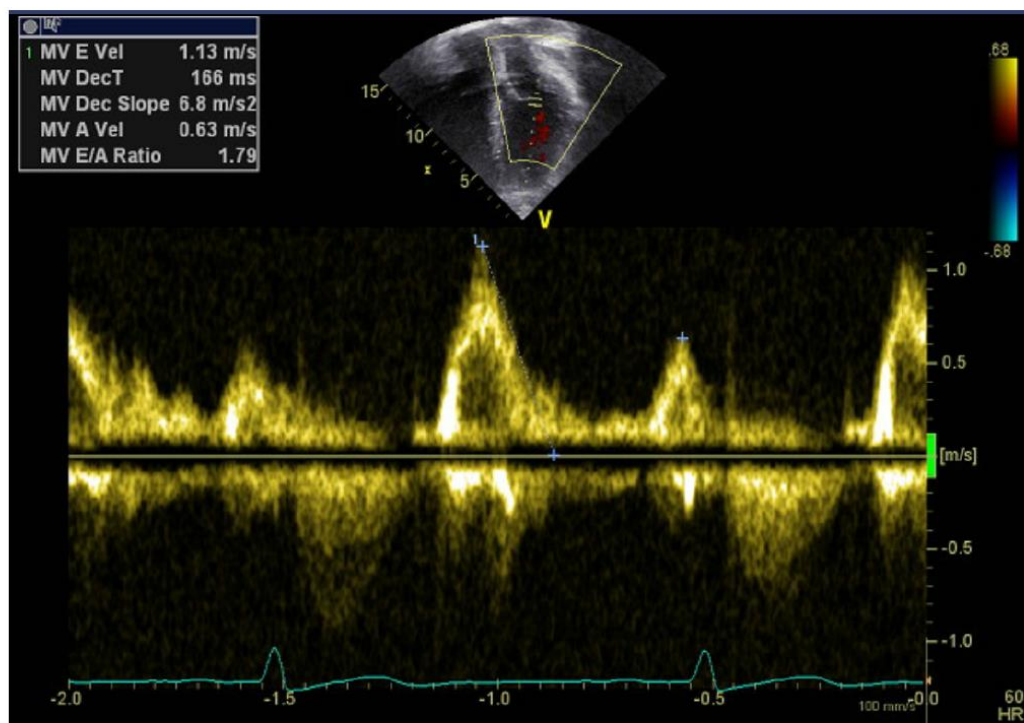


Fig. 9 - (A) Doppler Pulsato del flusso transmitralico, mostra le velocità di picco durante la fase diastolica precoce e durante la contrazione atriale

Dimensioni Atrio Sinistro

Le dimensioni e il volume dell'atrio sinistro sono stati calcolati nelle proiezioni apicali

2- e 4-camere.

§ Doppler Tissutale (TDI)

Le velocità miocardiche longitudinali diastoliche, precoci (E') e tardive (A'), e le velocità miocardiche longitudinali sistoliche (S') sono ottenute a livello della parete laterale dell'anulus mitralico e del setto interventricolare basale attraverso il PW TDI dalla finestra apicale 4 camere.

E' stato inoltre calcolato il rapporto E/E'.

Il tempo di rilasciamento isovolumetrico (IVRT), che rappresenta il tempo che intercorre tra la chiusura della valvola aortica e l'apertura della valvola mitrale ed il tempo di contrazione isovolumetrica (IVCT), che rappresenta il tempo che intercorre tra la chiusura della valvola mitrale e l'apertura della valvola aortica, sono stati ottenuti a livello della parete laterale dell'anulus mitralico.

§ Massa del ventricolo sinistro

Abbiamo effettuato poi il calcolo di:

- Massa del ventricolo sinistro (LVmass), usando l'Equazione di Devereux;
- Massa del ventricolo sinistro indicizzata per la superficie corporea;
- Massa del ventricolo sinistro indicizzata per l'altezza elevata alla potenza di 2,7.

5.3. Analisi statistica dei dati

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata usando Microsoft Excel, in particolare le funzioni MEAN, STD, TESTT; la prima funzione calcola la media campionaria dei dati, la seconda la deviazione standard campionaria e infine la funzione TESTT restituisce il valore del p-value di un T-test per il confronto tra le medie di due gruppi. Per alcuni parametri che presentavano SD molto diverse tra i due gruppi si è resa necessaria l'utilizzo della funzione TESTT con l'opzione "varianza dissimile".

Si è considerato come significativo un p-value <0,05. Nel paragrafo successivo vengono presentate le tabelle con i risultati ottenuti per ogni parametro.

5.4. Risultati

I dati anagrafici e antropometrici del gruppo di studio (del22q11) e del gruppo controllo (C) sono riportati nella **Tab.1**. Da questa si evince che i pazienti con del22q11 hanno

peso (Kg) e BMI (%) maggiori rispetto al C; dati statisticamente significativi con un $p < 0,0037$ e $p < 0,00027$ rispettivamente. I due gruppi risultano invece omogeni per età e altezza (cm).

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|-------------------------|---------------|----------------|-------------------|
| Età | 22,61 ± 5,55 | 21,35 ± 11,2 | |
| Altezza(cm) | 164,04 ± 8,38 | 162,57 ± 13,26 | 0,7152 |
| Peso(kg) | 67,87 ± 16,87 | 53,12 ± 10,6 | 0,00370 |
| BMI(kg/m ²) | 25,20 ± 5,69 | 19,38 ± 2,44 | 0,00027 |
| BSA (m ²) | 1,74 ± 0,21 | 1,55 ± 0,22 | 0,02071 |

Tab.1: Dati antropometrici dei soggetti esaminati. I dati sono espressi in termini di media ± deviazione standard

I parametri convenzionali M-mode IVSd/s, LVIDd/s, LVPWd/s, LA Diam, relativi al ventricolo sinistro, all'atrio sinistro e all'aorta, sono stati espressi come z-score perche il BSA, statisticamente differente tra il gruppo di studio e quello di controllo, avrebbe

potuto inficiare il confronto. Molti parametri non sono risultati statisticamente diversi tra i due gruppi.

Le differenze statisticamente significative, cioe con un p-value<0,05, sono state rilevate per i valori medi di LVsMass (g), LVMI (g/m^{2,7}) (come si puo osservare anche nei bloxpot relativi a questi dati Fig. x), e per i valori di IVSs, EDV e SV.

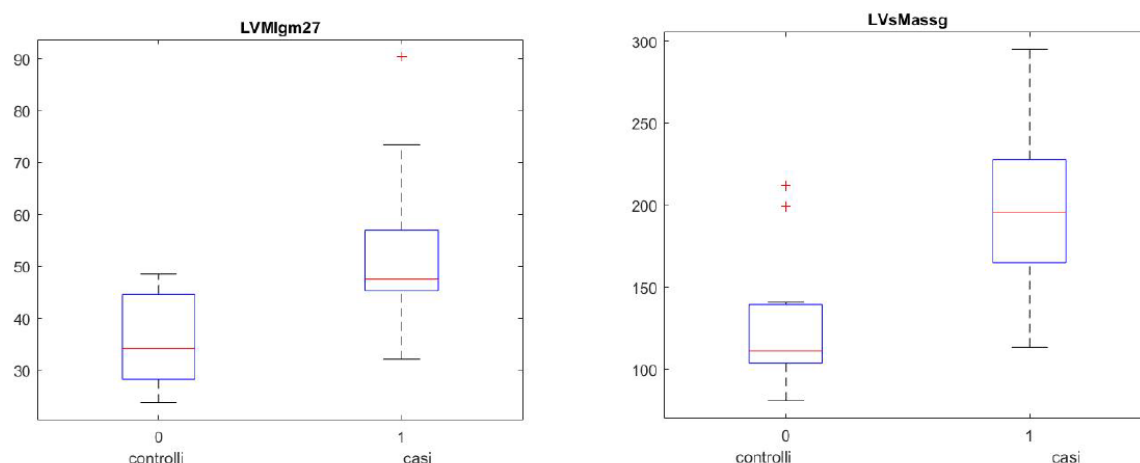


Fig. 10: Confronto visivo tramite boxplot degli indici di massa ventricolare

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|---|-----------------|------------------|------------------------------|
| IVSd (z-score) | 0,97 ± 0,82 | 0,55 ± 0,69 | 0,125778 |
| LVIDd (z-score) | 0,181 ± 1,56 | 0,11 ± 0,65 | 0,855989 |
| LVPWd (z-score) | 0,49 ± 0,89 | 0,15 ± 0,69 | 0,240496 |
| IVSs (z-score) | 1,37 ± 0,88 | 0,64 ± 0,67 | 0,012958 |
| LVIDs (z-score) | 0,13 ± 1,22 | 0,47 ± 0,85 | 0,354762 |
| LVPWs (z-score) | 0,38 ± 1,09 | -0,08 ± 0,79 | 0,157913 |
| EDV (teich) (ml) | 125,42 ± 29,88 | 100,21 ± 18,06 | 0,003878 |
| ESV (teich) (ml) | 40,81 ± 12,32 | 36,14 ± 9,12 | 0,207627 |
| EF (teich) (%) | 67,62 ± 5,55 | 63,86 ± 7,08 | 0,107489 |
| Fs (%) | 38 ± 4,49 | 36,93 ± 9,68 | 0,703519 |
| SV (teich) (ml) | 84,76 ± 21,52 | 64,21 ± 13,9 | 0,001635 |
| LVd Mass index (g/m²) | 112,418 ± 25,12 | 86,54 ± 21,08 | 0,003410 |
| LVMI (g/m^{2.7}) | 51,58 ± 13,27 | 35,29 ± 8,5 | 0,000099 |
| LA Diam (z-score) | 0,78 ± 1,36 | 0,93 ± 0,67 | 0,665173 |
| LA/AO | 1,13 ± 0,2 | 1,29 ± 0,15 | 0,015243 |

Tab.2: Parametri M-mode

Analogamente, per quanto riguarda i quattro diametri aortici, considerati come z-score, non si evidenziano differenze significative (**Tab.3**)

| z-score | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|---------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| Anulus Ao | 0,48 ± 1,23 | 0,56 ± 1,57 | 0,870109 |
| Bulbo Ao | 1,67 ± 1,27 | 0,92 ± 1,93 | 0,194597 |
| Giunzione ST | 0,82 ± 1,48 | 1,5 ± 0,88 | 0,124779 |
| Ao Asc | 0,39 ± 1,60 | 0,60 ± 1,77 | 0,756598 |

Tab.3: Diametri Aortici.

Per i parametri della funzione diastolica, studiata con la metodica convenzionale attraverso l'analisi del flusso transmitralico, la differenza tra i DecT è risultata statisticamente significativa.

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|-----------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| MV E Vel (m/s) | 1,04 ± 0,21 | 0,93 ± 0,16 | 0,106682 |
| MV Dec T (ms) | 159,52 ± 21,95 | 175,77 ± 17,39 | 0,023413 |
| MV A Vel (m/s) | 0,61 ± 0,11 | 0,54 ± 0,09 | 0,100333 |
| MV E/A Ratio | 1,76 ± 0,41 | 1,74 ± 0,30 | 0,877279 |

Tab.4: Analisi del flusso transmitralico

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|-------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| LSm (cm/s) | 12,33 ± 8,27 | 11,79 ± 2,11 | 0,774891 |
| LEm (cm/s) | 17,52 ± 3,45 | 17,86 ± 4,22 | 0,808108 |
| LAm (cm/s) | 8,29 ± 2,14 | 7,14 ± 2,38 | 0,149198 |
| LEm/LAm | 2,27 ± 0,87 | 2,71 ± 0,97 | 0,184391 |
| IVRT | 41,29 ± 7,21 | 48,29 ± 8,26 | 0,075424 |
| IVCT | 51,81 ± 12,06 | 50,14 ± 11,76 | 0,753381 |
| E/LEm | 0,06 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,025482 |

Tab.5: TDI a livello della parete laterale dell'anulus mitralico

Lo stesso si può dire dello studio TDI effettuato a livello della porzione settale dell'anulus mitralico (MSm, MEm, MAm, E/MEm), con significatività del rapporto E/MEm

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|-------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| MSm (cm/s) | 9,14 ± 1,42 | 8,14 ± 2,21 | 0,112534 |
| MEm (cm/s) | 14,90 ± 2,50 | 15,43 ± 2,06 | 0,521592 |
| MAm (cm/s) | 9,38 ± 3,00 | 8,29 ± 2,52 | 0,269671 |
| E/MEm | 0,07 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,011243 |

Tab.6: TDI a livello della parete mediale dell'anulus mitralico

e per i parametri del TDI studiati a livello della tricuspide (LSt, LEt, LAAt, TAPSE)

| | DEL22q11 | CONTROLLI | P -value (T-test) |
|--------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| LSt (cm/s) | 15,05 ± 2,41 | 13,62 ± 1,89 | 0,078937 |
| LEt (cm/s) | 16,86 ± 2,93 | 15,23 ± 3,37 | 0,147765 |
| LAAt (cm/s) | 13,52 ± 4,15 | 10,62 ± 4,25 | 0,058024 |
| TAPSE (cm) | 2,35 ± 0,25 | 2,26 ± 0,31 | 0,414069 |

Tab.5: TDI a livello dell'anulus della valvola tricuspide

5.5. Discussione

Il nostro è uno studio caso-controllo in cui abbiamo confrontato due gruppi omogenei per età, il primo di pazienti con del 22q11 non cardiopatici e il secondo di soggetti sani.

Questo, si configura come il primo studio clinico condotto in pazienti adolescenti e adulti affetti da del22q11 nel quale viene analizzata la funzionalità cardiaca.

La nostra analisi dimostra che per la maggior parte dei dati funzionali rilevati non sono

state riscontrate differenze statisticamente significative tra i casi (pazienti con del22q11) e i controlli.

Sono risultati invece statisticamente significativi allo studio M-mode, le differenze tra i valori di IVSs (z-score), EDV, SV, LVdMassIndex e LVMI (g/m²,7), che sono più elevati nei casi con del22q11, evidenziando quindi un aumento dello spessore del setto

interventricolare e della massa ventricolare nei pazienti con del22q11. Nei pazienti con

del22q11, anche allo studio TDI sono stati evidenziati aumenti statisticamente significativi per quanto riguarda i valori di MVDecT, LSt, LAt e i rapporti E/LEm ed E/ME_m. I dati precedentemente menzionati, in assenza di una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di soggetti presi in considerazione in termini di velocità massima di riempimento protodiastolico del ventricolo sinistro (onda E), suggeriscono che, l'aumento del rapporto E/E' possa essere riconducibile ad un ridotto rilassamento del ventricolo sinistro. È stato in passato dimostrato che il TDI è una metodica dotata di grande sensibilità nell'evidenziare, già in fase subclinica, la presenza di segni di una eventuale disfunzione diastolica che potrebbe precedere l'ipertrofia del miocardio. Sebbene nel nostro studio i valori sopracitati aumentati rispetto a quelli registrati nei controlli, non sono comunque sufficienti a determinare al momento un quadro patologico in quanto rientrano nei singoli pazienti nei limiti di normalità. Diversi sono i fattori che potrebbero essere implicati nell'aumento di questi valori. Ne abbiamo individuati essenzialmente quattro:

- disfunzione mitocondriale a livello cardiaco,
- difetti di sviluppo dei linfatici cardiaci legata a delezione TBX1,
- anomalie delle coronarie,
- alterazioni del sistema nervoso autonomo con conseguente tono vascolare anomalo.

Riguardo l'ipotesi dell'**alterazione mitocondriale**, come causa di aumento della massa

ventricolare, nel lavoro di Devaraju et al del 2017 viene esposta una ricerca su modelli murini con del22q11 in cui viene evidenziato il legame tra patologia mitocondriale ed alcuni geni (Prodh, Slc25a1, Mrlp140, Zdhhc8, T110, Txnrd2) coinvolti nella Sindrome da Delezione 22. In un lavoro del 2017 di Youngmin Eun et al, inoltre, si evidenziano i risultati ottenuti da uno studio caso-controllo sulla funzionalità cardiaca tra un gruppo di bambini con patologia mitocondriale e bambini sani, con risultati sovrapponibili a quelli ottenuti dal nostro team per quanto riguarda i pazienti con Del22.

Per la seconda ipotesi, le **alterazioni dei vasi linfatici**, vi sono in letteratura evidenze dell'importanza di TBX1 nella crescita e nel mantenimento di questi vasi (Chen et al, 2010) e di associazioni tra linfedema primario e altre anomalie linfatiche associate a del22q11 (Unolt et al, 2018).

Per quanto riguarda l'**alterazione delle coronarie**, TBX1 sembra essere coinvolto nel loro patterning morfologico (Theveniau-Ruissy et al, 2008).

Infine, sembrerebbe esserci una **disfunzione autonoma** (che spiegherebbe alterazioni quali: fenomeno di Raynaud, ipotensione idiopatica e ipotermia) (Shashi et al, 2002) che quindi andrebbe a determinare un'instabilità vasomotoria che potrebbe portare alle alterazioni riscontrate all'esame ecocardiografico.

5.6. Conclusioni

Con il presente studio quindi si è dimostrato che i soggetti con Sindrome da Delezione 22q11.2 hanno una funzionalità cardiaca sostanzialmente normale, poichè non sono stati riscontrati valori patologici maggiori all'analisi ecocardiografica. Vi sono però alcuni dati in cui si evidenzia una differenza statisticamente significativa tra casi e controlli.

Sicuramente, le differenze riscontrate, andranno indagate in modo accurato con studi più approfonditi per vagliare la veridicità delle ipotesi da noi fatte. Inoltre, trattandosi di un primo studio su pazienti adolescenti e adulti, sarà da dimostrare se queste lievi alterazioni possano portare con il tempo a manifestazioni patologiche o si manterranno

cl clinicamente silenti.

Per questo motivo suggeriamo che i pazienti con del22q11, anche in assenza di cardiopatia, dovrebbero essere seguiti nel tempo mediante attenti programmi di followup, volti ad identificare precocemente l'insorgenza di eventuali anomalie funzionali cardiovascolari.

Ulteriori studi dovranno inoltre valutare se e come, nei pazienti con del22q11 e cardiopatie congenite, queste alterazioni da noi rilevate possono influenzare i risultati chirurgici immediati e a distanza.

Bibliografia

- American Thoracic Society; American College of Chest Physicians (2003), ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. Am J Respir Crit Care Med. 2003 Jan 15;167(2):211-77;
- American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force Standardization of Lung Function Testing. Standardisation of spirometry. Eur Respir J 2005;26:319-338;
- Anaclerio S, Marino B, Carotti A, et al (2001) Pulmonary atresia with ventricular septal defect: prevalence of deletion 22q11 in the different anatomic patterns, Ital Heart J; 2:384–387;
- Atallah J, Joffe AR, Robertson CMT, et al (2007) Two-year general and neurodevelopmental outcome after neonatal complex cardiac surgery in patients with deletion 22q11.2: a comparative study, J Thorac Cardiovasc Surg; 134:772– 779;
- Bak M, Fransen A, Janssen J, van Os J, Drukker M. Almost all antipsychotics result in weight gain: a meta-analysis. PloS one. 2014; 9:e94112;
- Bassett AS, Chow EWC, Husted J et al (2009), Premature death in adults with 22q11.2 deletion syndrome. J Med Genet, 2009; 46(5): 324-330;

- Baumer A, Riegel M, Schinzel A (2004), Non-random asynchronous replication at 22q11.2 favours unequal meiotic crossovers leading to the human 22q11.2 deletion, *J Med Genet.*; 41:413–42;
- Belardinelli R (2005), Il test cardiopolmonare: la prova da sforzo del futuro? *Ital Heart J Suppl* 2005; 6 (2): 77-84;
- Botto LD, May K, Fernhoff PM (2003), A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics*. 2003 Jul;112(1 Pt 1):101-7;
- Bouchard C, An P, Rice T, et al. - Familial aggregation of VO₂ max response to exercise training: result from the HERITAGE Family Study.- *J. Appl Physiol*. 1999; 87:1003-1008;
- Brauner R, Le Harivel de Gonnevillle A, Kindermans C et al (2003), Parathyroid function and growth in 22q11.2 deletion syndrome, *J Pediatr*. 2003 May;142(5):504-8;
- Brown JJ, Datta V, et al (2004) Graves' disease in DiGeorge syndrome: patient report with a review of endocrine autoimmunity associated with 22q11.2 deletion, *J Pediatr Endocrinol Metab*; 17(11): 1575-9;
- Burn J, Takao A, Wilson D, Cross I, Momma K, Wadey R, Scambler PJ, Goodship J (1993) Conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion within chromosome 22q11, *J Med Genet*; 30:822-824;
- Burn J (1999), Closing time for CATCH 22, *J Med Genet*. 1999 Oct;36(10):737-8.
- Carlson C, Sirotkin H, Pandita R, et al (1997) Molecular definition of 22q11 deletions in 151 velo-cardio-facial syndrome patients, *Am j hum genet*; 61(3):620-9
- Carotti A, Digilio MC et al (2008) Cardiac defects and results of cardiac surgery in 22q11.2 deletion syndrome, *Dev Disabil Res Rev*; 14(1): 35-42;

- Carotti A, Albanese SB, Filippelli S, Ravà L, Guccione P, Pongiglione G, Di Donato RM (2010) Determinants of outcome after surgical treatment of pulmonary atresia with ventricular septal defect and major aortopulmonary collateral arteries, *J Thorac Cardiovasc Surg*; 140:1092–1103;
- Chieffo C, Garvey N, Gong W (1997), Isolation and characterization of a gene from the DiGeorge chromosomal region homologous to the mouse *Tbx1* gene. *Genomics*. 1997 Aug 1;43(3):267-77;
- Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS (1999), Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *The New England Journal of Medicine* 1999; 341; 18: 1351-1357;
- Consevage MW, Seip JR, Belchis DA, Davis AT, Baylen BG, Rogan PK (1996), Association of a mosaic chromosomal 22q11 deletion with hypoplastic left heart syndrome. *Am J Cardiol*. 1996 May 1;77(11):1023-5;
- Coppinger J, D McDonald-McGinn et al (2009) Identification of familial and de novo microduplications of 22q11.21-q11.23 distal to the 22q11.21 microdeletion syndrome region, *Hum Mol Genet*; 18(8): 1377-83;
- Cuneo BF (2001) 22q11.2 deletion syndrome: DiGeorge, velocardiofacial, and conotruncal anomaly face syndromes, *Curr Opin Pediatr*; 13(5): 465-72;
- De La Chapelle A, Herva R, Koivisto M, Aula P (1981) A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge Syndrom, *Hum Genet*. 1981;57(3):253-6
 Digeorge A (1965) A new concept of the cellular basis of immunity, *J Pediatr*; (67)907;
- De Smedt B, Devriendt K, Fryns JP, Vogels A, Gewillig M, Swillen A (2007) Intellectual abilities in a large sample of children with velo-cardio-facial syndrome: an update, *J of Intell Disab Res*; 51:666–70;
- Digilio MC, Marino B, Grazioli S, et al (1996) Comparison of occurrence of genetic syndromes in ventricular septal defect with pulmonic stenosis (classic Tetralogy of

Fallot) versus ventricular septal defect with pulmonic atresia, *Am J Cardiol*; 77:1375–1376;

- Digilio MC, Marino B, Dallapiccola B, (1997) Letter to the Editor Familial Deletions of Chromosome 22q11 *Am J Med Genet*; 96(March):95-96

- Digilio MC, Marino B, Bagolan P, Giannotti A, Dallapiccola B (1999) Microdeletion 22q11 and oesophageal atresia, *J Med Genet*; 36:137-139

- Digilio MC, Giannotti A et al (2003) Screening for celiac disease in patients with deletion 22q11.2 (DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome), *Am J Med Genet A*;121A(3): 286-8

- Digilio MC, Giannotti A, Dallapiccola B, Marino B (2003b), Postural anomaly of the head-neck-shoulder alignment in patients with deletion 22q11.2. *Clin Genet* 2003;64:447-448;

- Digilio MC, Marino B, Capolino R, et al (2005) Familial recurrence of nonsyndromic congenital heart defects in first degree relatives of patients with deletion 22q11.2 *Am J of Med Genet Part A*; 134A(2):158-64;

- Eicher PS, McDonald-McGinn DM, Fox CA et al (2000), Dysphagia in children with a 22q11.2 deletion: unusual pattern found on modified barium swallow. *J Pediatr*. 2000 Aug;137(2):158-64;

- Eliez S, Blasey CM, Menon V, White CD, Schmitt JE, Reiss AL (2001) Functional brain imaging study of mathematical reasoning abilities in velocardiofacial syndrome (del22q11.2), *Genet Med*; 3(1):49-55;

- Elhendy A, Mahoney DW, Khandheria BK, Burger K, Pellikka PA. Prognostic significance of impairment of heart rate response to exercise: impact of left ventricular function and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 82330;

- Emanuel BS, Budarf ML, Sellinger B, Goldmuntz E, Driscoll DA (1992) Detection of microdeletions of 22q11.2 with fluorescence in situ hybridization (FISH): diagnosis of DiGeorge syndrome (DGS), velocardio-facial (VCF) syndrome, CHARGE association and conotruncal cardiac malformations, *Am J Hum Genet.* 92
- Evers LJ1, van Amelsvoort TA, Candel MJ, Boer H, Engelen JJ, Curfs LM, (2014) Psychopathology in adults with 22q11 deletion syndrome and moderate and severe intellectual disability, *J Intellect Disabil Res.* 2014 Oct;58(10):915-25;
- Farrell MJ et al (1999) HIRA. a DiGeorge syndrome candidate gene, is required for cardiac outflow tract septation, *Circ Res*; 84: 127-135;
- Fernández L, Lapunzina P, Arjona D, et al (2005) Comparative study of three diagnostic approaches (FISH, STRs and MLPA) in 30 patients with 22q11.2 deletion syndrome, *Clinical genetics*;68(4):373-8;
- Gennery AR (2012), Immunological aspects of 22q11.2 deletion syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 2012 Jan;69(1):17-27;
- Giannotti A, Digilio MC, Marino B et al (1994) Cayler cardiofacial syndrome and del 22q11: part of the CATCH22 phenotype. *Am J Med Genet.* 1994 Nov 15;53(3):303-4;
- Golding-Kushner KJ, Weller G, Shprintzen RJ (1985), Velo-cardio-facial syndrome: language and psychological profiles, *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1985;5(3):259-66.
- Goodship JA, Wilson DI et al (1997) Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study, *J Med Genet*; 34(10):798-804;
- Fung WL, Butcher NJ, Costain G, Andrade DM, Boot E et al (2015) Practical guidelines for managing adults with 22q11.2, *Genet Med.* 2015 Aug;17(8):599-609

- Jerome LA, Papaioannou VE (2001) DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1, Nature Genet; 27: 286-291
- Junker AK, Driscoll DA (1995) Humoral immunity in DiGeorge syndrome, J Pediatr; 127(2):231-7;

- Kennedy WP, Mudd PA, Maguire MA, Souders MC, McDonald-McGinn DM, Marcus CL, Zackai EH, Solot CB, Mason TB, Jackson OA, Elden LM (2014), 22q11.2 Deletion syndrome and obstructive sleep apnea. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2014 Aug;78(8):1360-4.
- Kinouchi A, Mori K, Ando M, Takao A. Facial appearance of patients with conotruncal anomalies. *Pediatr J Jpn* 1976;17:84.
- Kobrynski LJ and Sullivan KE (2007) Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2 deletion syndromes, *The Lancet*; 370:1443-52;
- Konen O, Armstrong D et al (2008) C1-2 vertebral anomalies in 22q11.2 microdeletion syndrome, *Pediatr Radiol*; 38(7): 766-71;
- Kurahashi H, Nakayama t, Osugi, Y, Tsuda E, Masuno M, Imaizumi K, Kamiya T, Sano T, Okada S, Nishisho I (1996) Deletion mapping of 22q11 in CATCH22 syndrome: identification of second critical region, *Am J Hum Genet*; 58;1377-1881;
- Lindsay EA (2001) Chromosomal microdeletions: dissecting del22q11 syndrome, *Nature reviews. Genetics*; 2(11):858-68;
- Losken A, Williams JK, Burstein FD, Malick DN, Riski JE (2006) Surgical correction of velopharyngeal insufficiency in children with velocardiofacial syndrome, *Plast Reconstr Surg*; 117:1493Y1498;
- Maharasingam, M, Ostman-Smith I et al (2003) A cohort study of neurodevelopmental outcome in children with DiGeorge syndrome following cardiac surgery, *Arch Dis Child* 88(1): 61-4;
- Mahle WT, Crisalli J, Coleman K, et al (2003) Deletion of chromosome 22q11.2 and outcome in patients with pulmonary atresia and ventricular septal defect, *Ann thorac Surg*; 76:567–571;

- Mansour AM, Goldberg RB, Wang FM, Shprintzen RJ (1987) Ocular findings in the velo-cardio-facial syndrome, *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*; 24:263-266;
- Marino B, Marcelletti C, Giannotti A, Dallapiccola B. (1991) Di George anomaly with atrioventricular canal. *Chest*. 1991 Jan;99(1):242-3;
- Marino B, Digilio MC, Grazioli S, Dallapiccola B et al (1996) Associated cardiac anomalies in isolated and syndromic patients with tetralogy of Fallot, *Am J Cardiol*; 77:505–508;
- Marino B, Digilio MC, Novelli G, Giannotti A, Dallapiccola B (1997), Tricuspid atresia and 22q11 deletion. *Am J Med Genet*. 1997 Oct 3;72(1):40-2.
- Marino B, Digilio MC, Persiani M, et al (1999) Deletion 22q11 in patients with interrupted aortic arch, *Am J Cardiol*; 84:360–361;
- Marino B, Digilio MC et al (2001) Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11, *Genet Med*; 3(1): 45-8;
- McCrindle BW, Tchervenkov CI, Konstantinov IE, et al (2005) Risk factors associated with mortality and interventions in 472 neonates with interrupted aortic arch: a congenital heart surgeons society study, *J Thorac Cardiovasc Surg*; 129:343–350; 149;
- McDonald-McGinn DM, Driscoll DA, Bason L, et al (1995) Autosomal dominant "Opitz" GBBB syndrome due to a 22q11.2 deletion, *Am J Med Genet*; 59:103-1113; 150.
- McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH (1996) Autosomal dominant "Opitz" GBBB syndrome due to a 22q11.2 deletion, *Am J Med Genet*; 64(3):525–526;

- McDonald-McGinn DM, Zackai EH (2005) Genetic counselling in Velo-CardioFacial syndrome, Murphy KC and Scambler PJ (eds), Cambridge University Press, pp 220-219;
- McDonald-McGinn DM, Sullivan KE (2011) Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome; Medicine; 90(1):1-18;
- Melchionda S, Digilio MC, Mingarelli R, Novelli G, Scambler P, Marino B, Dallapiccola B (1995), Transposition of the great arteries associated with deletion of chromosome 22q11. Am J Cardiol. 1995 Jan 1;75(1):95-8;
- Michielon G, Marino B et al (2009) Impact of DEL22q11, trisomy 21, and other genetic syndromes on surgical outcome of conotruncal heart defects, J Thorac Cardiovasc Surg 138(3): 565-570 e2;
- Miller M.R, Hankinson J, Wanger J et al: Standardisation of spirometry – Eur Respir J, 2005; 26: 319-338;
- Ming JE, McDonald-McGinn DM et al (1997) Skeletal anomalies and deformities in patients with deletions of 22q11, Am J Med Genet; 72(2): 210-5;
- Momma K (2010) Cardiovascular anomalies associated with chromosome 22q11.2 deletion syndrome Am J Cardiol; 105(11): 1617-24;
- Moore SC et al (2012), Leisure Time Physical Activity of Moderate to Vigorous Intensity and Mortality: A Large Pooled Cohort Analysis, PLoS Med. 2012; 9(11);
- Murphy KC, Jones LA, Owen MJ. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. Arch. Gen. Psychiatry. 1999; 56:940–945;
- Óskarsdóttir, S., E. Holmberg, et al (2008) Facial features in children with the 22q11 deletion syndrome, Acta Paediatr; 97(8): 1113-7;

- Pastore E, Marino B et al (2000), Clinical and cardiorespiratory assessment in children with down syndrome without congenital heart disease. Arch Pediatr Adolesc Med. 2000 Apr;154(4):408-10.
- Perez E, Sullivan KE (2002) Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge and velocardiofacial syndromes), Curr Opin Pediatr; 14(6):678-83;
- Rasmussen SA, Williams CA, Ayoub EM, et al (1996) Juvenile rheumatoid arthritis in velo-cardio-facial syndrome; coincidence or unusual complication?, Am Med Genet; 64:546-5;
- Repetto GM, Guzman ML et al (2009) Clinical features of chromosome 22q11.2 microdeletion syndrome in 208 Chilean patients, Clin Genet; 76(5): 465-70;
- Rhodes J, Ubeda Tikkanen A, Jenkins KJ (2010), Exercise testing and training in children with congenital heart disease. Circulation. 2010 Nov 9;122(19):1957-67;
- Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI et al (1997) Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study, J Med Genet; 34(10):798-804;
- Sacca R, Zur KB, Crowley TB et al (2017), Association of airway abnormalities with 22q11,2 deletion syndrome. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2017 May;96:11-14;
- Schneider M, et al. (2014) Psychiatric disorders from childhood to adulthood in 22q11.2 deletion syndrome: results from the International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 deletion syndrome. Am. J. Psychiatry. 2014; 171:627–639;
- Shprintzen RJ, Goldberg RB, Lewin ML, et al. A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies, and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. Cleft Palate 7 1978;15:56-62;

- Slavich G, Fregolent R, Tuniz D, Slavich M (2008), I parametri ergometrici e i punteggi diagnostici e prognostici pre- e post-test da sforzo alla luce delle più recenti acquisizioni: revisione della letteratura. *G Ital Cardiol* 2008; 9 (9): 615-626;
- Staple L, Andrews T, McDonald-McGinn D, Zackai E, Sullivan KE. (2005) Allergies in patients with chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome) and patients with chronic granulomatous disease; *Ped Allergy and Immunol*; 16(3):226-3;
- Swillen A, Devriendt K, Legius E, Prinzie P, Vogels A, Ghesquière P, Fryns JP, (1999) The behavioural phenotype in velo-cardio-facial syndrome (VCFS): from infancy to adolescence, *Genet Couns.* 1999;10(1):79-88;
- Tan GM, Arnone D et al (2009) Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies in chromosome 22q11.2 deletion syndrome (velocardiofacial syndrome), *Schizophr Res*; 115(2-3): 173-81;
- Tancredi G, Turchetta A, Prove di funzionalità respiratoria in età pediatrica-Le prove da sforzo. *Pneumologia Pediatrica* giugno 2006; 22:65-71.
- Tancredi G, Versacci P, Pasquino Am (2011), Cardiopulmonary response to exercise and cardiac assessment in patients with turner syndrome. *Am J Cardiol.* 2011 Apr 1;107(7):1076-82
- Toscano A, Anaclerio S, Diglio MC et al (2002) Ventricular septal defect and deletion of chromosome 22q11: anatomical types and aortic arch anomalies, *Eur J Pediatr*; 161(2): 116-7;
- Vergaelen E, Claes S, Kempke S, Swillen A (2016), High prevalence of fatigue in adults with a 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A.* 2017 Apr;173(4):858-867;
- Verloes A, Curry C, Jamar M, et al (1998) Juvenile rheumatoid arthritis and del(22q11) syndrome: a non-random association, *J Med Genet*; 35(11):943-7;

- Voll SL, Boot E, Butcher NJ, Cooper S, Heung T, Chow EW, Silversides CK, Bassett AS (2017) Obesity in adults with 22q11.2 deletion syndrome, *Genet Med.* 2017 Feb;19(2): 204-208;

- Weinzimer SA, McDonald-McGinn DM, Driscoll DA, Emanuel BS, Zackai EH (1998) Growth hormone deficiency in patients with a 22q11.2 deletion: expanding the phenotype, *Pediatr*; 101:929-932;

- Wilkes C, Kydd R, Sagar M, Broadbent E (2017), Upright posture improves affect and fatigue in people with depressive symptoms. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 2017 Mar; 54:143-149;

- Wilson DI, Burn J, Scambler P, Goodship J (1993) DiGeorge syndrome: part of CATCH 22, *J Med Genet*; 30(10):852-6;

- Zhang Z, Baldini A (2008) In vivo response to high-resolution variation of *Tbx1* mRNA dosage, *Hum Mol Genet*; 17:150–157;

